

Beiträge zur Biosynthese des Iridodials, Coccinellins und Cantharidins

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

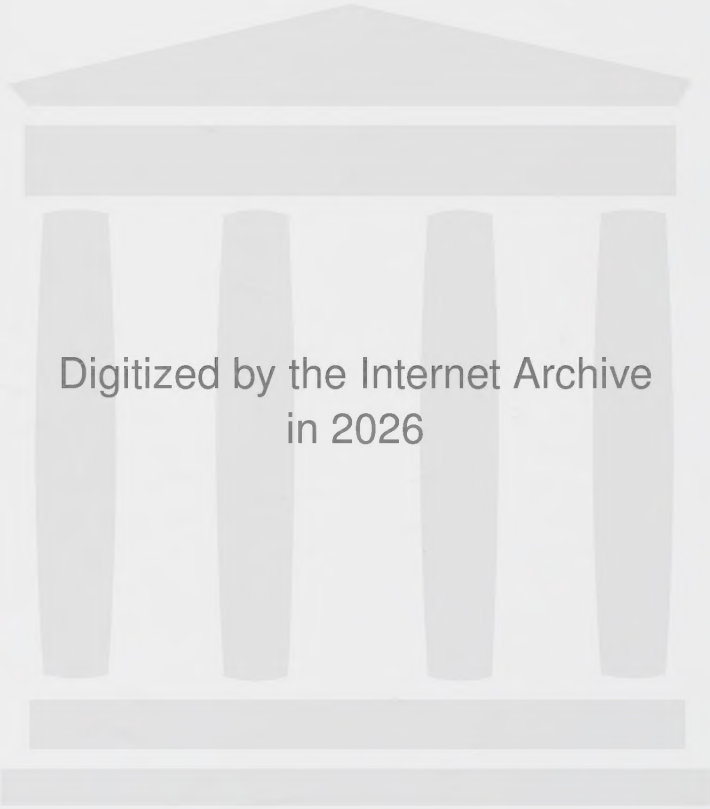
SUZANNE HAUFFE
von Illnau (Kt. Zürich)

Ausgeführt unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Schmid †
Begutachtet von Herrn Prof. Dr. M. Hesse

1980



Juris Druck + Verlag Zürich
1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Beiträge zur Biosynthese des Iridodials, Coccinellins und Cantharidins

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

SUZANNE HAUFFE
von Illnau (Kt. Zürich)

Ausgeführt unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Schmid †
Begutachtet von Herrn Prof. Dr. M. Hesse



Juris Druck + Verlag Zürich
1979



ISBN 3 260 04729 8

Für Walter
und
meine Eltern

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. Schmidt ,
danke ich herzlich für wertvolle Anregungen und sein
stetes Interesse an der vorliegenden Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

ERSTER TEIL

Beiträge zur Biosynthese des Iridodials	9
A. Theoretischer Teil	9
1. Einleitung	9
2. Problemstellung	22
3. Synthesen von Iridodial	22
3.1. Stereospezifische Synthese nach Achmad & Cavill	22
3.2. Iridodial-Synthese nach Clark et al.	37
4. Abbau von Iridodial	38
5. Einbauversuche mit 2- ¹⁴ C-Mevalonat in <i>Tapinoma nigerrimum</i> Nyl.	45
B. Experimenteller Teil	46
C. Literaturverzeichnis	64

ZWEITER TEIL

Beiträge zur Biosynthese des Coccinellins	67
A. Theoretischer Teil	67
1. Einleitung	67
2. Experimente zur Biosynthese von Coccinellin	71
3. Resultate	75
B. Experimenteller Teil	80
C. Literaturverzeichnis	86

DRITTER TEIL

Beiträge zur Biosynthese des Cantharidins	89
A. Theoretischer Teil	89
1. Einleitung	89
2. Problemstellung	94
3. Untersuchung der Inhaltsstoffe von <i>Lytta vesicatoria</i> L.	95
4. Experimente zur Biosynthese von Cholesterin in <i>Lytta vesicatoria</i> L.	100
5. Versuche zur Synthese des 4, 8, 12-Trimethyl-3, 7, 11-tridecatrien-phosphonophosphates	103
B. Experimenteller Teil	110
C. Literaturverzeichnis	125
ABKUERZUNGSVERZEICHNIS	126

ERSTER TEIL

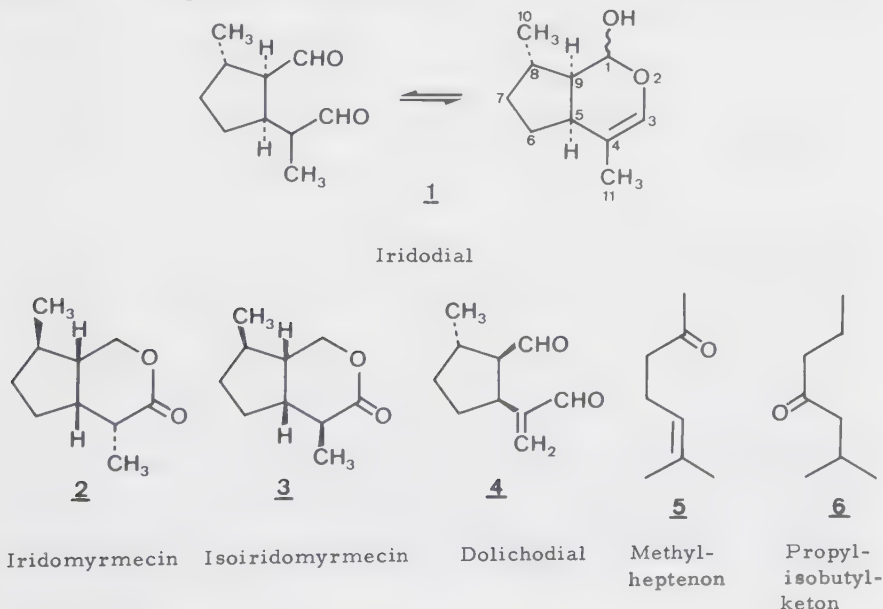
Beiträge zur Biosynthese des Iridodials

A. THEORETISCHER TEIL

1. EINLEITUNG

Iridodial (1)¹⁾, ein wohlriechendes Monoterpen, wurde fast gleichzeitig von Cavill et al. [1] aus der australischen Ameise *Iridomyrmex detectus* F. Sm. und von Trave & Pavan [2] aus der Ameise *Tapinoma nigerrimum* Nyl. isoliert und in seiner Struktur [3] aufgeklärt. In einigen weiteren Ameisenarten der Unterfamilie Dolichoderinae konnte Iridodial (1) neben den folgenden verwandten terpenoiden Verbindungen isoliert werden: Iridomyrmecin (2), Isoiridomyrmecin (3), Dolichodial (4), Methylheptonon (5) und Propyl-isobutylketon (6) [4] (Schema 1).

SCHEMA 1. Terpene aus Dolichoderinae

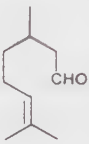
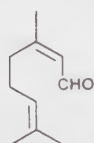
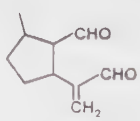


1) Es ist hier nur das Hauptisomere von Iridodial gezeigt.

Im Abwehrsekret der Käfer *Staphylinus olens* Müll. [5] und *Aromia moschata* L. [6] konnte ebenfalls Iridodial (1) nachgewiesen werden.

Die Experimente, die sich mit der Biosynthese von Monoterpenen in Insekten befassen, sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

TABELLE 1. Experimente zur Biosynthese von Monoterpenen in Insekten²⁾

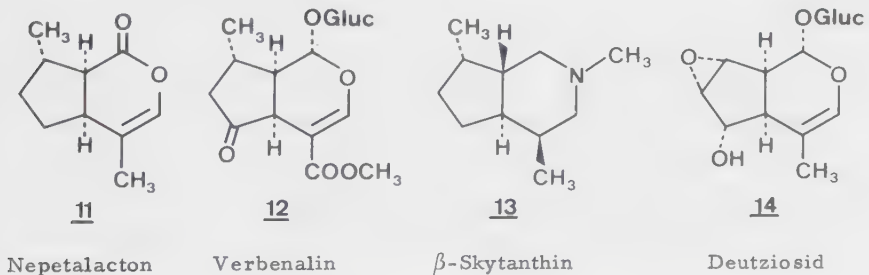
Insekt	Inhaltsstoff	Vorläufer	Einbaurate %	Lit.
Acanthomyops claviger Roger	 <u>7</u> Citronellal	1- ¹⁴ C-Acetat 2- ¹⁴ C-Acetat 2- ¹⁴ C-Mevalonat	0,009 0,0016 0,1	[7]
Acanthomyops claviger Roger	 <u>8</u> Citral	1- ¹⁴ C-Acetat 2- ¹⁴ C-Acetat 2- ¹⁴ C-Mevalonat	0,0009 0,0013 0,07	[7]
Anisomorpha buprestoides Stoll	 <u>9</u> Anisomorphal	1- ¹⁴ C-Acetat 2- ¹⁴ C-Acetat 2- ¹⁴ C-Mevalonat	0,04 0,08 0,008	[8]

2) Bei Citronellal handelt es sich vermutlich um das D(+)-Isomere. Von Citral wurden das E- und das Z-Isomere isoliert. Anisomorphal (9) ist offensichtlich ein Isomeres des Dolichodials (4), doch wurde nie genau abgeklärt, um welches Isomere es sich dabei handelt [9, 10] .

Wie daraus ersichtlich ist, sind sehr kleine Einbauraten erhalten worden. Da die spezifische Aktivität der Inhaltsstoffe sehr niedrig war, schien es den Autoren nicht sinnvoll, diese weiter abzubauen, um einen spezifischen Einbau des Vorläufers zu beweisen. Es war demnach sehr verlockend, anhand der Biosynthese des Iridodials (1) zu zeigen, dass Insekten fähig sind, Monoterpene spezifisch aus Mevalonsäure (10) zu synthetisieren.

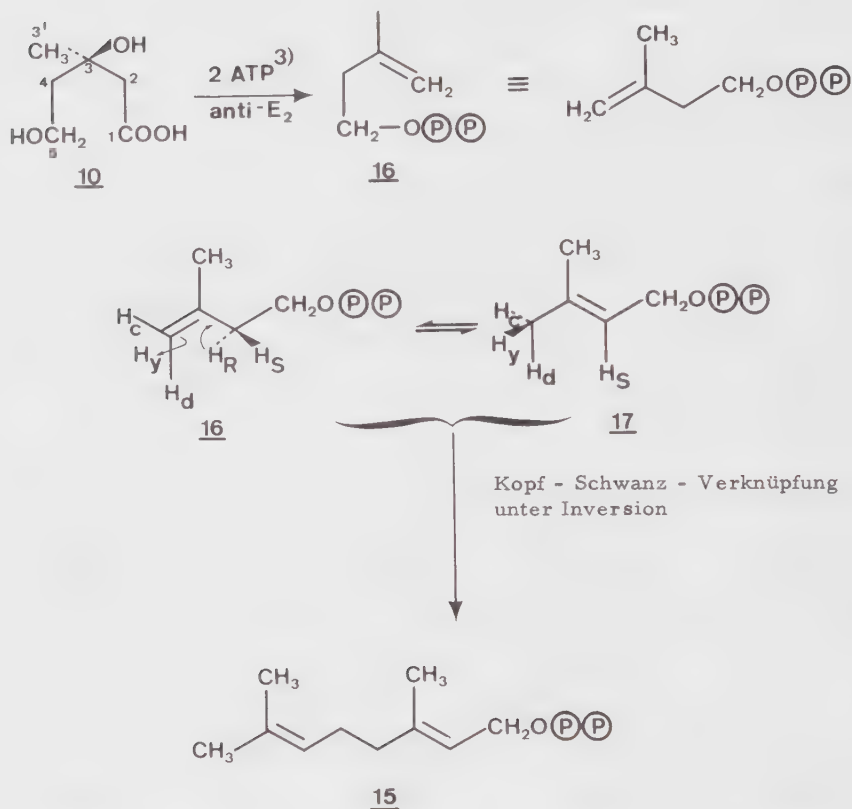
Auch aus Pflanzen sind zahlreiche mit dem Iridodial (1) verwandte Monoterpene isoliert worden. Es werden hier einige Vertreter gezeigt, auf deren Biosynthese später genauer eingegangen wird (Schema 2): Nepetalacton (11) aus *Nepeta cataria* L. [11], Verbenalin (12) aus z. B. *Verbena officinalis* L. [12], β -Skytanthin (13) (und andere Isomere) aus *Skytanthus acutus* M. [13] und Deutziosid (14) aus *Deutzia crenata* Sieb. et Zucc. [14]. Eine Uebersicht über Iridoide ist in [15] erschienen.

SCHEMA 2. Einige Iridoide aus Pflanzen



Zur Biosynthese von Monoterpenen in Pflanzen sind zahlreiche Experimente unternommen worden [16]. In Schema 3 sind die Schritte ausgehend von 3(R)-Mevalonsäure (3(R)-10) bis zum Geranylpyrophosphat (15), die zentrale Zwischenstufe aller Monoterpene, dargestellt. 3(R)-10 wird durch eine stereospezifische anti-E2-Elimination und Umsetzung mit zwei Molen ATP ins Isopentenylpyrophosphat (16) überführt, welches durch Abstraktion des pro-R-Protons an C-Atom 2 (C(4)=pro S-Proton der Mevalonsäure (10)) und Anlagerung eines Protons von der entgegengesetzten Molekülseite an C(4) (C(2) der Mevalonsäure (10)) zum Dimethylallylpyrophosphat (17) isomerisiert.

SCHEMA 3. Biosynthese von Geranylpyrophosphat (15-PP) ausgehend von Mevalonsäure (10) (P): Phosphat



Kopf-Schwanz-Verknüpfung von Isopentenylpyrophosphat (16) mit Dimethylallylpyrophosphat (17) verläuft unter Inversion an C(1) des Dimethylallylpyrophosphates (17) und liefert E-Geranylpyrophosphat (15) [17]. Die weiteren Umwandlungen von 15 zu anderen acyclischen, mono- oder bicyclischen Monoterpenen sind sehr vielfältig; die Mechanismen sind jedoch oft noch nicht bewiesen [18] .

3) Die Erklärung dieser und aller weiteren Abkürzungen ist im Abkürzungsverzeichnis zu finden.

Im folgenden sollen einige Experimente, die zur Biosynthese der Iridoide in Pflanzen gemacht worden sind, besprochen werden.

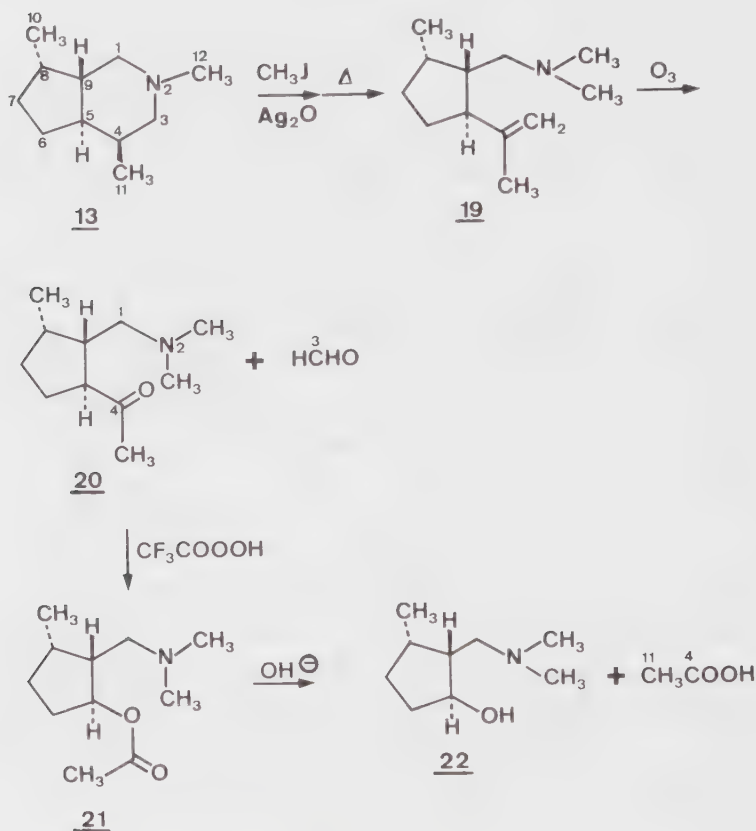
Experimente zur Biosynthese des β -Skytanthins (13) sind von Auda et al. durchgeführt worden [19] . Sie konnten nach Applikation von 2- ^{14}C -Mevalonat (2- ^{14}C -18)⁴⁾ an *Skytanthus acutus* M. radioaktives β -Skytanthin (13) isolieren (Einbaurrate: 0,56 % total in α , β - und Dehydroskytanthin). Das radioaktive Präparat unterwarfen sie dem in Schema 4 angegebenen Abbau und konnten damit die Aktivität der C-Atome 3, 4 und 11 bestimmen. Durch Kuhn-Roth-Abbau von β -Skytanthin (13) wurde die Aktivität der C-Atome 4, 11, 8 und 10 erhalten. Zusammen mit den Ergebnissen des Abbaus wurde die in Schema 5 dargestellte Verteilung der Radioaktivität in β -Skytanthin (13) hergeleitet. Die Autoren machten ausserdem die Beobachtung, dass die Verteilung der Radioaktivität zwischen den C-Atomen 3 und 11 in β -Skytanthin (13) vom Alter der Pflanze, an welche der radioaktive Vorläufer appliziert wurde, abhängig war (siehe Schema 5).

Ein weiteres Iridoid, Nepetalacton (11), welches abwehrende Wirkung auf Insekten zeigt [20] , wurde ebenfalls biogenetisch untersucht. 2- ^{14}C -Mevalonat (2- ^{14}C -18) wurde an die Pflanze *Nepeta cataria* L. gefüttert und von dieser in Nepetalacton (11) eingebaut. Durch den in Schema 6 angegebenen Abbau des Lactons 11 konnte die Aktivität in den C-Atomen 3, 4 und 11 bestimmt werden. Zusammen mit den Ergebnissen aus dem Kuhn-Roth-Abbau des Lactons 11 ergibt sich die in Schema 7 dargestellte Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen C-Atome [21] .

Von Guarnaccia et al. [22] stammen die Experimente zur Biosynthese des Loganins (27). Sie applizierten 2- ^{14}C , (4R)-4- ^3H -Mevalonat (2- ^{14}C , (4R)-4- ^3H -18) an die Pflanze *Swertia caroliensis* (Walt) Kuntze und isolierten danach radioaktives Loganin (27), welches dasselbe $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Verhältnis zeigte wie der Vorläufer. Wurde 2- ^{14}C , (4S)-4- ^3H -Mevalonat (2- ^{14}C -, (4S)-4- ^3H -18) verfüttert, so war das isolierte Loganin (27) tritiumfrei (Schema 8) .

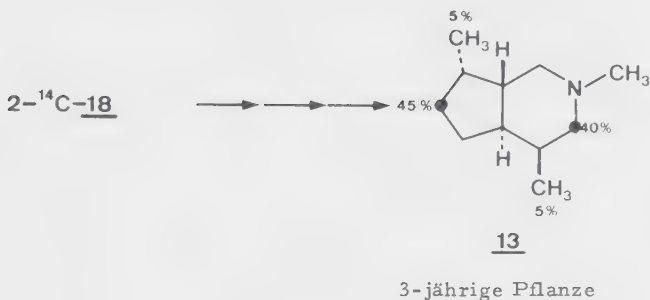
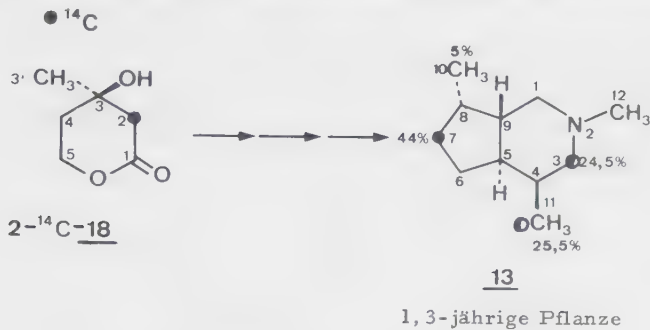
4) Wie in der Biosynthese-Literatur üblich wird hier das 3(R)-Mevalonat gezeigt, obwohl für die Experimente meist ein racemisches Gemisch des Natriumsalzes der 3(RS)-Mevalonsäure verwendet wird.

SCHEMA 4. Abbau von β -Skytanthin (13) nach [19]



Ausführliche Experimente zur Biosynthese des Verbenalins (12) stammen von Horodysky et al. [23]. Folgende Vorläufer wurden an *Verbena officinalis* L. appliziert (in Klammern Einbauraten in das Aglucon): $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat (0,004 %), $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat (0,007 %), $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Mevalonat ($2\text{-}^{14}\text{C}$ -18) (0,10 %) und $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Geraniol ($1\text{-}^{14}\text{C}$ -28) (0,009 %). Das Präparat aus der Fütterung mit $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Mevalonat ($2\text{-}^{14}\text{C}$ -18) wurde dem in Schema 9 gezeigten Abbau unterworfen. Die Aktivität in den C-Atomen 8 und 10 des Verbenalins (12) wurde wiederum durch Kuhn-Roth-Oxydation ermittelt. Die Ergebnisse aus den zwei Abbaumethoden sind in Schema 10 zusammengefasst.

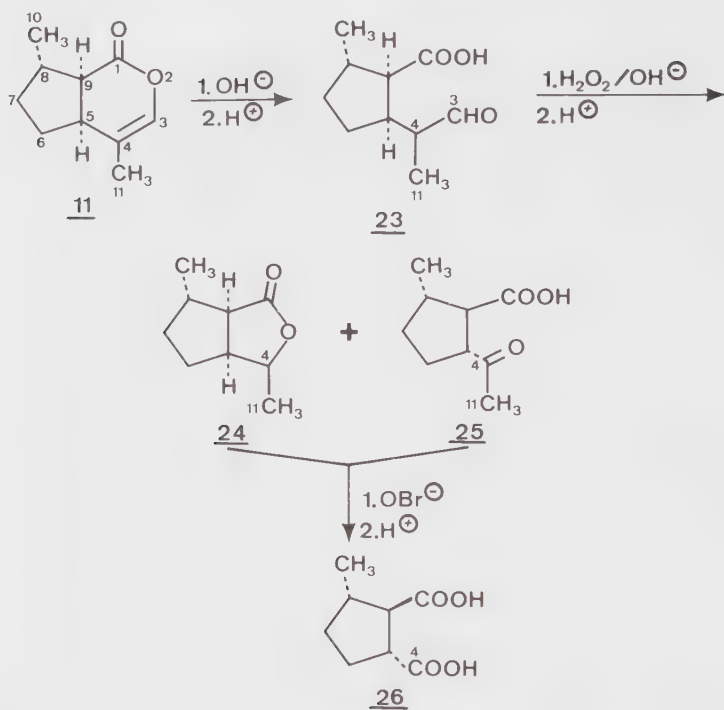
SCHEMA 5. Einbau von 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) in β-Skytanthin (13)



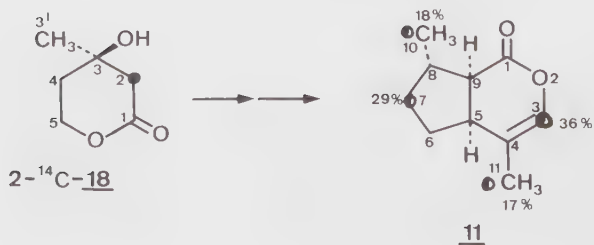
Auch hier wurde festgestellt, dass die Randomisierung der Aktivität auf die C-Atome 3 und 11 vom Alter der Pflanzen abhängig ist. 1-bis 2-monatige Pflanzen zeigen fast Gleichverteilung der Aktivität auf die C-Atome 3 und 11, 4 bis 4,5 Monate alte Pflanzen zeigen die Verteilung, wie sie in Schema 10 gezeigt ist.

Neuere Experimente zur Biosynthese verschiedener Iridoide haben Inouye et al. durchgeführt [24] . Sie applizierten ebenfalls 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) an *Lamium amplexicaule* und *Deutzia crenata* Sieb. et Zucc. Die daraus isolierten radioaktiven Iridoide wurden nach verschiedenen Methoden abgebaut. Die erhaltenen Resultate sind in Schema 11 wiedergegeben.

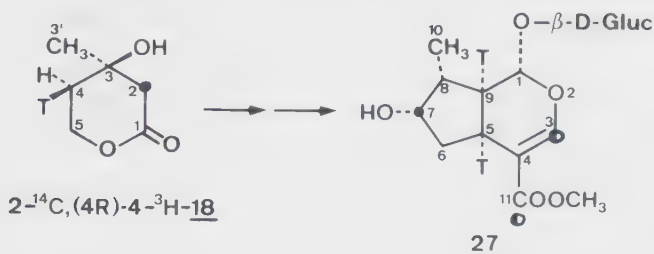
SCHEMA 6. Abbau von Nepetalacton (11) nach [21]



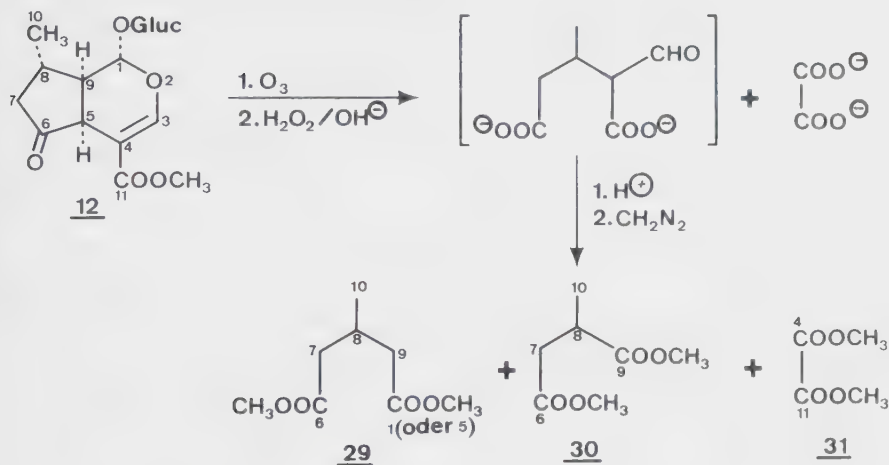
SCHEMA 7. Einbau von 2- ^{14}C -Mevalonat (2- ^{14}C -18) in Nepetalacton (11)



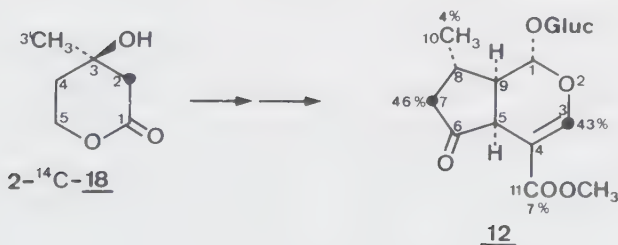
SCHEMA 8. Einbau von 2-¹⁴C, (4R)-4-³H-Mevalonat (2-¹⁴C, (4R)-4-³H-18) in Loganin (27) T: ³H



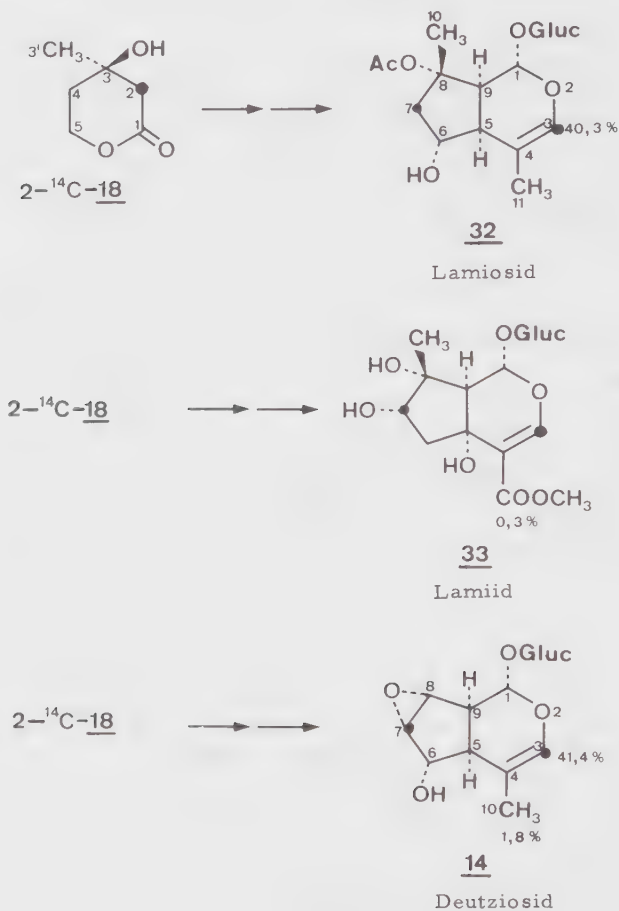
SCHEMA 9. Abbau von Verbenalin (12) nach [23]



SCHEMA 10. Einbau von 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) in Verbenalin (12)



SCHEMA 11. Einbau von $2-^{14}\text{C}$ -Mevalonat ($2-^{14}\text{C-18}$) in Lamiosid (32), Lamiid (33) und Deutziosid (14)

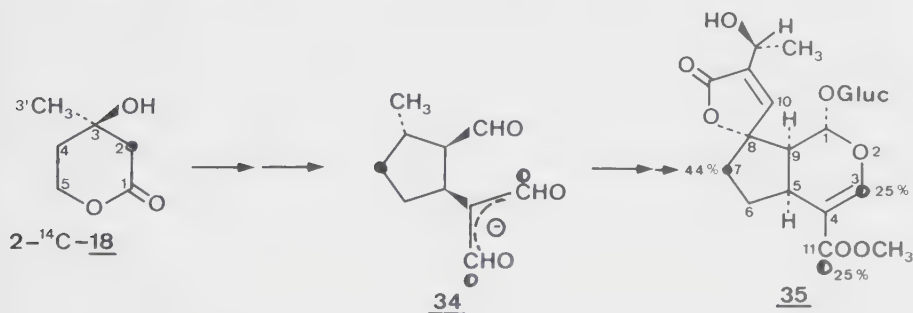


Alle hier erwähnten Experimente zur Biosynthese der Iridoide in Pflanzen zeigen leider kein einheitliches Bild. Im Falle der Biosynthese des β -Skytanthins (13) in jungen Pflanzen wurde eine Gleichverteilung der Radioaktivität auf die C-Atome 3 und 11 gefunden, d.h. dass die C-Atome 2 und 3' der Mevalonsäure (10) auf irgendeiner Stufe der Biosynthese äquivalent werden. Diese Aequilibrierung wurde jedoch nur in jungen Pflanzen festgestellt, in alten Pflanzen befindet sich die Aktivität wie zu erwarten in C-Atom 3.

Ähnliches wurde auch bei der Biosynthese des Verbenalins (12) festgestellt. Auch hier ist die Verteilung der Radioaktivität auf die C-Atome 3 und 11 in 12 vom Alter der Pflanze abhängig. Die Autoren haben noch gezeigt, dass Geraniol (28) ein Vorläufer für Verbenalin (12) ist.

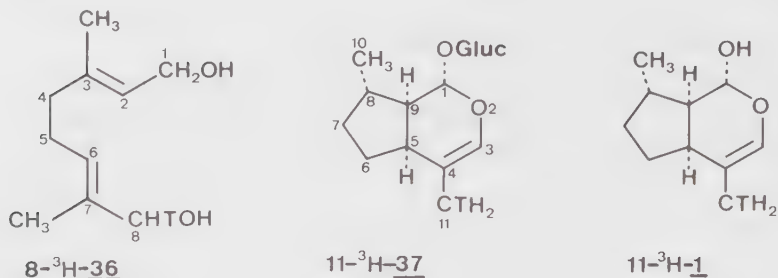
In Nepetalacton (11) wird nicht nur eine Aequilibrierung zwischen den C-Atomen 3 und 11, sondern auch zwischen 7 und 10 gefunden, im Gegensatz zu Lamiosid (32), Lamiid (33) und Deutziosid (14), wo keine Aequilibrierung festgestellt wurde. Die von Yeowell & Schmid [25] und auch von Goeggel & Arigoni [26] vorgeschlagene Dialdehydzwischenstufe 34 zur Erklärung der Biosynthese des Plumierid (35) (Schema 12) bzw. Vindolins kann wohl die Aequilibrierung in β -Skytanthin (13) und in Verbenalin (12) erklären, nicht aber die Aequilibrierung in beiden Isopreneinheiten des Nepetalactons (11).

SCHEMA 12. Einbau von 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) in Plumierid (35)



Die Bedeutung des Iridodials (1) als Zwischenstufe in der Biosynthese der Iridoide ist aus den nachfolgend geschilderten Experimenten, die von Inouye et al. [27] ausgeführt wurden, ersichtlich. An *Deutzia crenata* Sieb. et Zucc. wurden folgende radioaktiven Vorläufer gefüttert: 8-³H-8-Hydroxygeraniol (8-³H-36), 11-³H-Iridodial (11-³H-1) und sein Glucosid 11-³H-37 (Schema 13). In allen drei Fällen konnten sie radioaktives Deutziosid (14) isolieren. Die Einbauraten betrugen für 8-Hydroxygeraniol (36) 0,045 %, für Iridodial (1) 0,76 % und für das Iridodialglucosid (37) 1,09 %. Durch Ozonabbau des Deutziosids (14) erhielten sie C-Atom 3 als Ameisensäure. Der Kuhn-Roth-

SCHEMA 13. Radioaktive Vorläufer, die an *Deutzia crenata* Sieb. et Zucc. verfüttert wurden

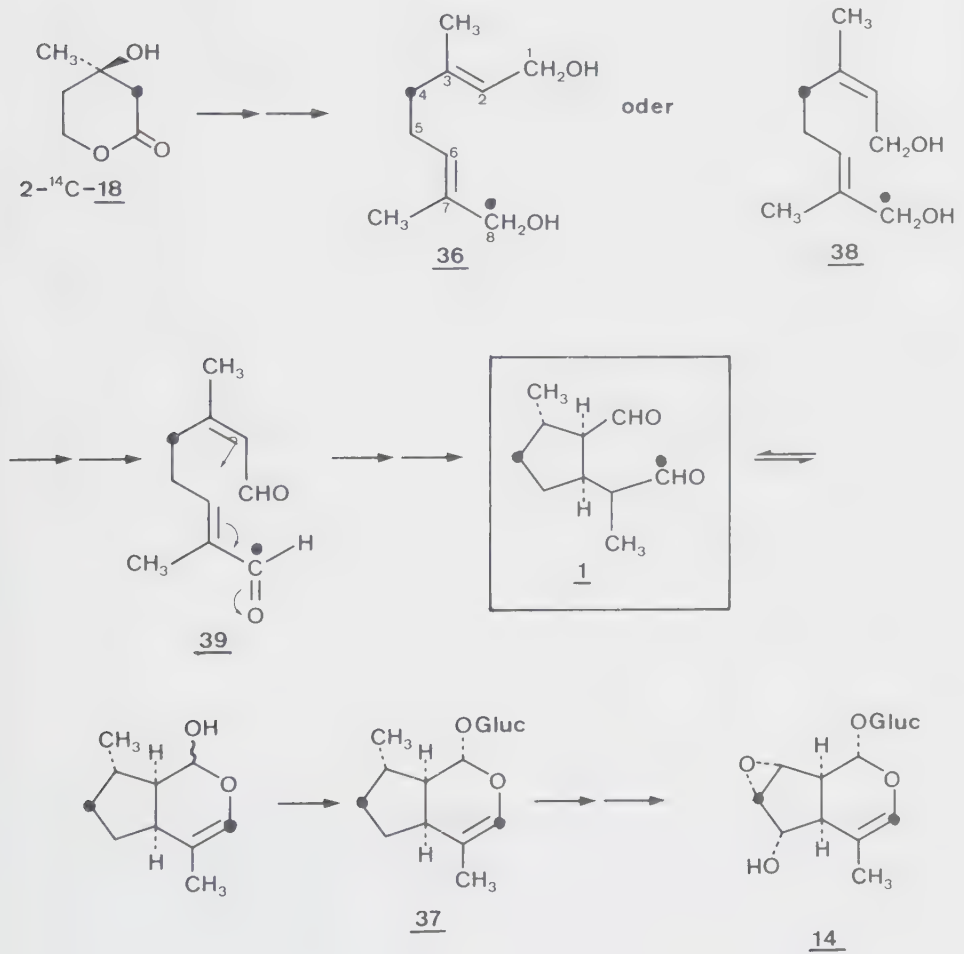


Abbau liefert die Aktivitäten in den C-Atomen 4 und 10. So konnte gezeigt werden, dass die Aktivität von C-Atom 11 in 11-³H-1 und seinem Glucosid 11-³H-37 im C-Atom 10 des Deutziosids (14) lokalisiert ist, und dass die Markierung aus dem 8-Hydroxygeraniol (36) in C-Atom 3 des Naturstoffes eingeht. Durch diese Experimente wird das Biosyntheseschema, wie es in Schema 14 dargestellt ist, erhärtet.

Danach sind 10-Oxo-neral (39) der acyclische und Iridodial (1) der wichtigste cyclische Vorläufer für die Iridoide 32, 33 und 14.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in alten Pflanzen der normale Biosyntheseweg, wie er von Inouye et al. [24] vorgeschlagen wird, mit grosser Wahrscheinlichkeit für den Aufbau der Iridoide zutrifft. In jungen Organismen scheinen einige Reaktionen anders abzulaufen. Die Gründe hierfür sind bis heute nicht geklärt. Als mögliche Ursachen kommen Aenderungen im Enzymsystem oder unterschiedliche Grösse des "Substratpools" in Frage [19] . So können die Konzentrationen an Enzymen oder Enzyminhibitoren in jungen und alten Pflanzen verschieden sein. In jungen Pflanzen kann ein grosser, in alten Pflanzen ein kleiner Monoterpen-Pool vorhanden sein. Dies würde dazu führen, dass in alten Pflanzen ein Vorläufer sofort aufgenommen und in den Inhaltsstoff eingebaut würde, während in jungen Pflanzen dieser während einiger Zeit im Pool verbleiben würde und dabei äquilibriert werden könnte. Unsere Kenntnisse über diese Vorgänge sind jedoch nicht ausreichend, um endgültige Schlüsse zu ziehen.

SCHEMA 14. Biosynthese von Deutziosid (14) nach Inouye et al. [27]



2. PROBLEMSTELLUNG

Wie aus der Einleitung hervorgeht, weiss man über die Biosynthese der Iridoide in Pflanzen schon einiges. Ob von Insekten derselbe Weg eingeschlagen wird, ist bis jetzt unbekannt; eine Frage, die durch die Aufklärung der Biosynthese des Iridodials (1) in der Ameise *Tapinoma nigerrimum* Nyl. abgeklärt werden könnte.

Um die Biosynthese des Iridodials (1) untersuchen zu können, war zur Ausarbeitung eines inaktiven Abbaus und zur Verdünnung des biosynthetisierten Iridodials (1) eine grössere Menge dieses Naturstoffes erforderlich. Da dieser in natürlichen Quellen nur in sehr geringer Konzentration vorkommt, musste er synthetisch hergestellt werden. Die bekannten Synthesen für Iridodial (1) sind alle älteren Datums und demzufolge ist die Charakterisierung der einzelnen Produkte in der Literatur unzureichend. Eine Synthese wie sie von Achmad & Cavill [28] publiziert wurde, die sehr wahrscheinlich nur ein Isomeres, das Enantiomere des natürlichen Iridodials (1) liefert, musste so ausgearbeitet werden, dass die Konfigurationen der Zwischenprodukte und des erhaltenen Iridodials zweifelsfrei bewiesen waren.

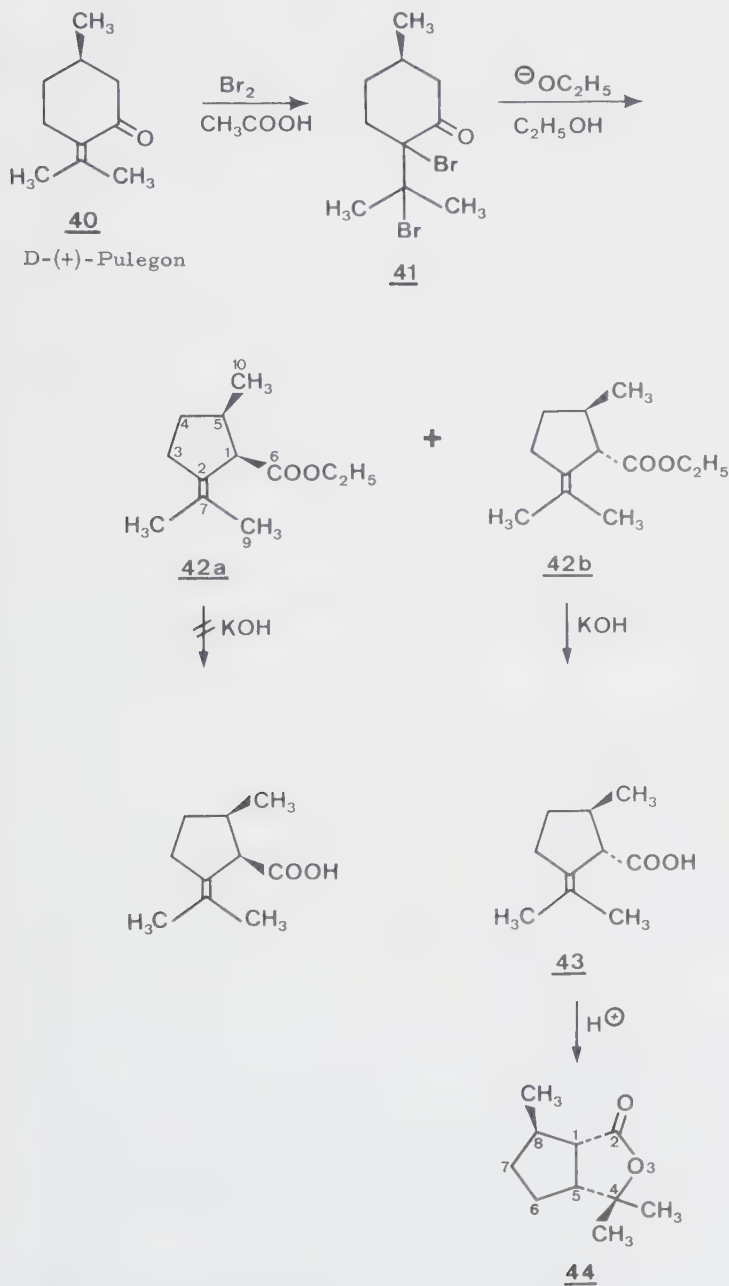
3. SYNTHESEN VON IRIDODIAL (1)

3.1. Stereospezifische Synthese nach Achmad & Cavill [28] (Schemata 15 und 16)

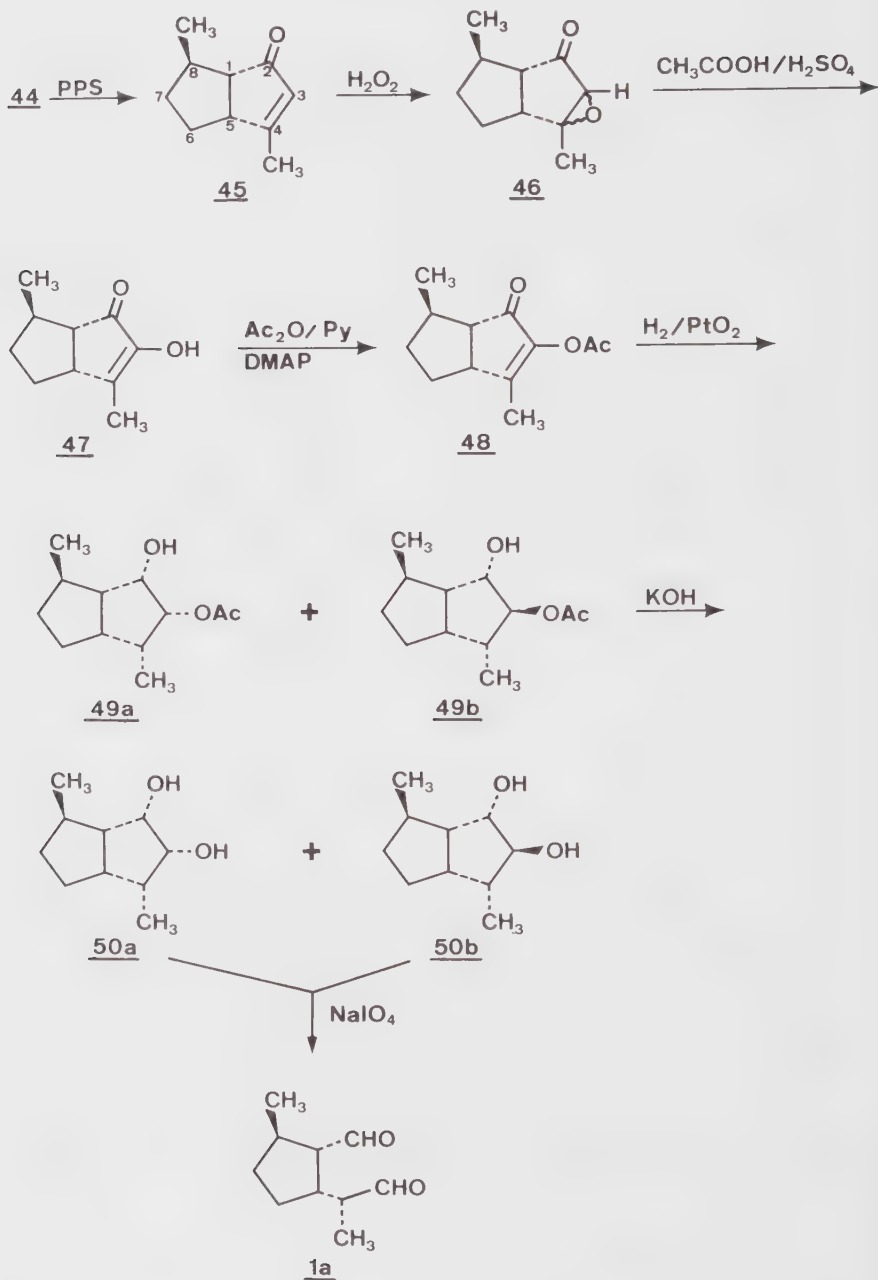
Als chirales Ausgangsmaterial diente D-(+)-Pulegon (40) (Fluka, $[\alpha]_D = +23, 0^\circ$). Dieses wurde bei 0° mit Brom in Eisessig umgesetzt⁵⁾ und lieferte das instabile Dibromid 41, welches sogleich in Pentan gelöst und zu einer heissen Lösung von Natriumäthylat in Aethanol zugetropft wurde. Nach 2 Std. Reaktions-

5) Versuche in CCl_4 verliefen mit geringerer Ausbeute, ebenso wenn Kupfer(II)-bromid als Bromierungsmittel in Acetonitril verwendet wurde [29] .

SCHEMA 15. Synthese von Iridodial (1a) nach Achmad & Cavill [28]



SCHEMA 16. Synthese von Iridodial (1a) (Fortsetzung)



zeit wurde aufgearbeitet. Das Rohprodukt enthielt 81 % cis- und trans-Pulegensäureäthylester (42a und 42b) im Verhältnis 24 : 76 (GC.-Analyse) und ca. 16 % nicht umgesetztes Pulegon⁶⁾. Daneben konnte in 3 - 15 % Ausbeute die Pulegensäure (43) isoliert werden. Zur Charakterisierung der Ester 42a und 42b wurde eine kleine Probe des Gemisches chromatographisch (präp. DC. an Kieselgel, Pentan/Aether 9 : 1) und destillativ gereinigt. Im ¹H-NMR.-Spektrum⁷⁾ des Estergemisches erkennt man in Uebereinstimmung mit der Literatur [30] für das Proton an C(1) zwei d bei 3,41 (ca. 0,22 H; J=7) und bei 2,96 ppm (ca. 0,72 H; J=6). Dabei kann das d bei tieferem Feld der cis-, dasjenige bei höherem Feld der trans-Verbindung zugeordnet werden. Das Estergemisch 42a und 42b wurde darauf mit KOH in Aethanol/Wasser unter Rückfluss in die trans-Pulegensäure (43) überführt, die nach Destillation in 71 - 74 % Ausbeute erhalten wurde. Der cis-Ester 42a ist sterisch derart stark gehindert, dass er nicht verseift werden kann⁸⁾.

Eine kleine Probe der trans-Pulegensäure (43) war mit Diazomethan verestert worden und zeigte im GC. nur einen einzigen Pik. Im ¹H-NMR.-Spektrum zeigte der Methylester ein d für das H-C(1) bei 3,02 ppm (J=6), was die oben getroffene Zuordnung der entsprechenden Protonen im cis- und trans-Ester 42a und 42b bestätigt. In der trans-Pulegensäure (43) erscheint dasselbe Proton bei 2,98 ppm.

Behandlung der Säure 43 mit methanolischer Salzsäure während 8 Std. lieferte nach Destillation in 70 - 80 % Ausbeute das Lacton 44, das im GC. nur einen Pik zeigte, d. h. dass nur ein Isomeres entstanden ist. Es darf angenommen werden, dass es sich dabei um das stabilere cis-verknüpfte Lacton 44 handelt. Im IR.-Spektrum zeigen sich zwei charakteristische Banden bei 1750 und 1760 cm⁻¹, welche die Lactonstruktur bestätigen. Die Bestimmung der relativen Konfigurationen an den C-Atomen 1, 5 und 8 ist aufgrund der spektroskopischen Daten nicht möglich. Auf dieses Problem wird später noch eingegangen.

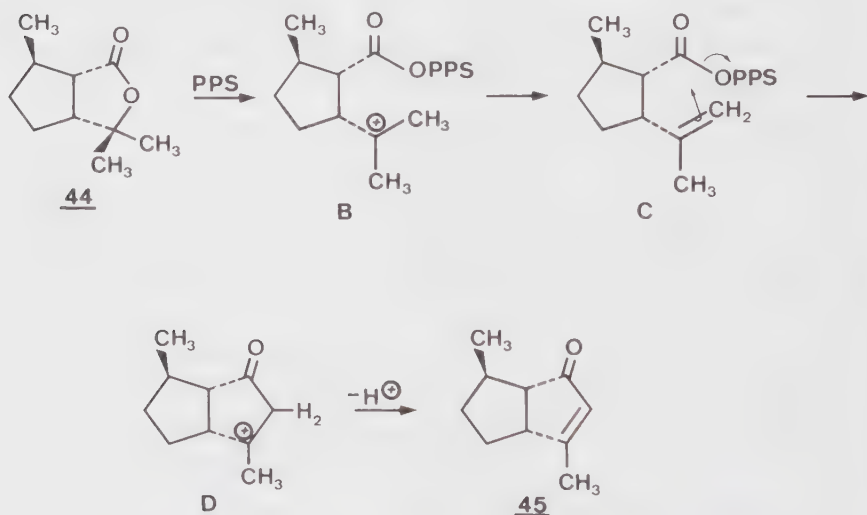
6) Da mit einem ca. 10proz. Unterschuss an Brom gearbeitet werden musste, konnte nicht alles Pulegon (40) umgesetzt werden. Bei Verwendung äquimolarer Mengen Brom nahmen die Ausbeuten jedoch ab.

7) ¹H-NMR.-Spektren bei 90, 100 oder 360 MHz und ¹³C-NMR.-Spektren bei 25,2 MHz; chemische Verschiebungen in ppm relativ zu TMS als internem Standard (=0 ppm); s=Singulett, d=Dublett, t=Triplett, qa=Quadruplett, m=Multiplett; Kopplungskonstanten (J) in Hz.

8) Bei längeren Reaktionszeiten tritt Epimerisierung an C(1) ein. Das Verhältnis 42a : 42b im Gleichgewicht ist von der verwendeten Basenkonzentration abhängig. Es kann jedoch nur trans-Säure 43 isoliert werden [30] .

Die nun folgenden Umsetzungen sind in Schema 16 dargestellt. Zur Ueberführung des Lactons 44 in die Schlüsselverbindung 45 wurde ein Gemisch von 90proz. Phosphorsäure und Phosphorpentoxid (Superphosphorsäure) auf 100° erhitzt und tropfenweise das Lacton 44 zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde 4 Std. bei derselben Temperatur gerührt und dann aufgearbeitet. Nach Chromatographie und Destillation konnte in 10 - 15 % Ausbeute das Cyclopentenon 45 isoliert werden. Für diese Umwandlung wird von Achmad & Cavill die folgende Erklärung gegeben (Schema 17):

SCHEMA 17. Mechanismus der Umwandlung von 44 in 45 nach [28]



Polyphosphorsäure oder Phosphorpentoxid öffnen den Lactonring zum gemischten Anhydrid C, welches in der angegebenen Weise zum Cyclopentenon 45 cyclisieren kann. Es liegt auf der Hand, dass unter diesen Bedingungen leicht Isomerisierungen eintreten können. Eine Beweisführung für die relative Konfiguration an den C-Atomen 1, 5 und 8 im Produkt 45 folgt.

Zunächst legen Banden bei 1690 und 1621 cm^{-1} im IR.-Spektrum und ein λ_{max} bei 232 nm im UV.-Spektrum eine Cyclopentenon-Struktur nahe. Das $^1\text{H-NMR}$.-Spektrum zeigt bei $5,78\text{ ppm}$ ein breites s für das vinyliche H-C(3),

bei 3,20 ppm ein m für H-C(5) und bei 2,38 ppm qa für H-C(1)⁹⁾. Die Methylgruppen erscheinen bei 2,1 (CH₃-C(4)) bzw. 1,08 ppm (CH₃-C(8)). Argumente für die Stereochemie wie sie in Formel 45 angegeben ist, sind folgende:

- a) aus Stabilitätsgründen kann eine cis-Verknüpfung der beiden fünfgliedrigeren Ringe angenommen werden.
- b) bei Zusatz von Eu(fod)₃ als Verschiebungsreagens erleidet die Methylgruppe an C(8) nur eine im Vergleich zu den andern der Carbonylgruppe benachbarten Protonen kleine Verschiebung nach tieferem Feld (Abb. 1) im ¹H-NMR.-Spektrum.

Modellbetrachtungen zeigen, dass dies nur möglich ist, wenn die fragliche Methylgruppe oberhalb des Ringes steht, ansonsten müsste sie einen starken Shift erleiden.

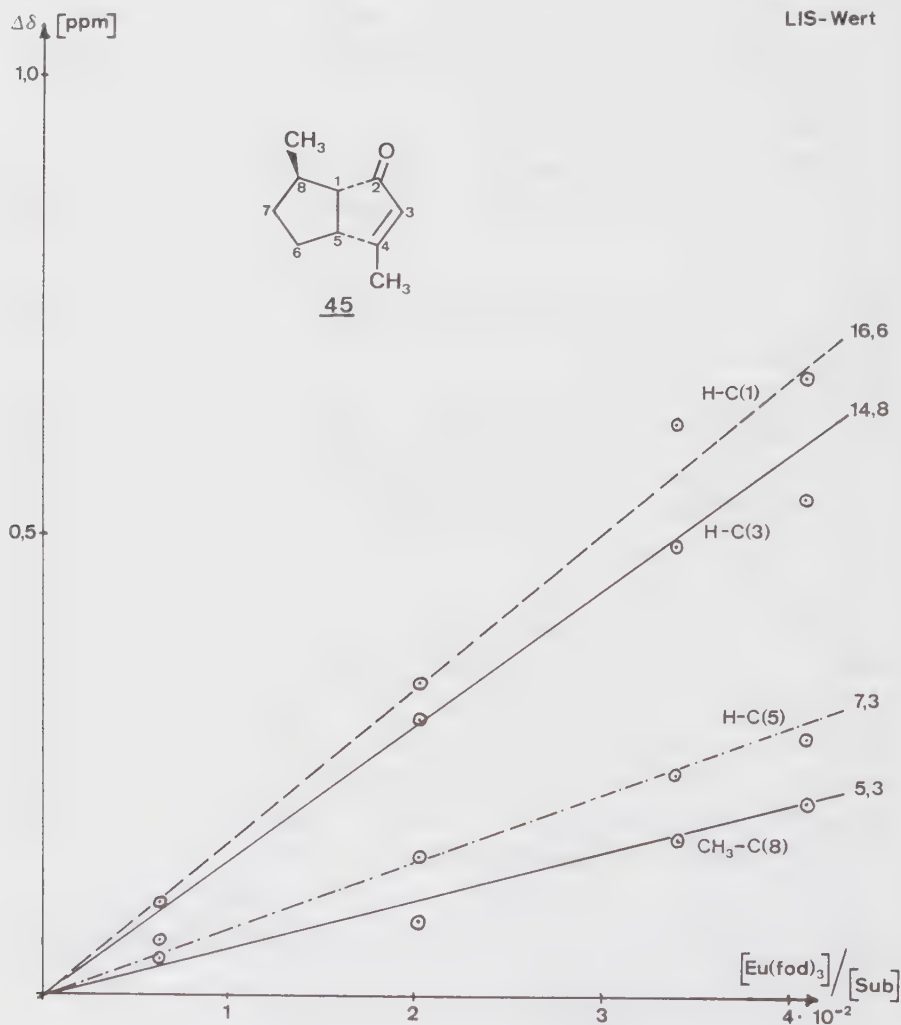
Mit dieser Zuordnung ist die Konfiguration des Endproduktes 1a¹⁰⁾ schon vorgegeben, da die weiteren Umsetzungen keine stereochemischen Veränderungen an den C-Atomen 1, 5 und 8 verursachen sollten. Die nun folgenden Reaktionen dienen nur noch dazu, eine zusätzliche Sauerstofffunktion an C(3) einzuführen, um zum Diol 50 zu gelangen, welches durch eine einfache Spaltung in Iridodial (1a) überführt werden kann.

Das Cyclopentenon 45 wurde durch Umsetzung mit alkalischer Hydrogenperoxid-Lösung in Methanol bei 0° in das Epoxid 46 überführt. Reinigung erfolgte durch Chromatographie und Destillation, Ausbeute 57 %. Im ¹H-NMR.-Spektrum zeigt sich die Absorption des Protons an C(3) als s bei 3,22 ppm, H-C(5) qa bei 2,96 und H-C(1) ebenfalls als qa bei 2,32 ppm. Offensichtlich ist bei der Reaktion nur ein Isomeres entstanden, da zu erwarten wäre, dass das Proton an C(3) in den zwei möglichen Isomeren unterschiedliche chemische Verschiebung aufweisen sollte und im ¹H-NMR.-Spektrum eines Gemisches zwei s (ev. mit verschiedener Intensität) für dieses Proton erscheinen sollten. Dies wird jedoch

9) Die Zuordnung der Signale zu den einzelnen Protonen erfolgte durch Doppelresonanzexperimente.

10) Das Iridodial aus dieser Synthese ist das Enantiomere des natürlich vorkommenden 1 und wird zur Unterscheidung mit 1a bezeichnet. Aus demselben Grund wird das Isomerengemisch aus der Synthese nach Clark et al. mit 1b, Gemisch synthetisches + natürliches Iridodial mit 1c bezeichnet.

ABB. 1. $\Delta\delta$ einiger Protonen in 45 in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Eu(fod)_3 . Konzentration $[\text{45}] = 1 \text{ M}$ in CDCl_3



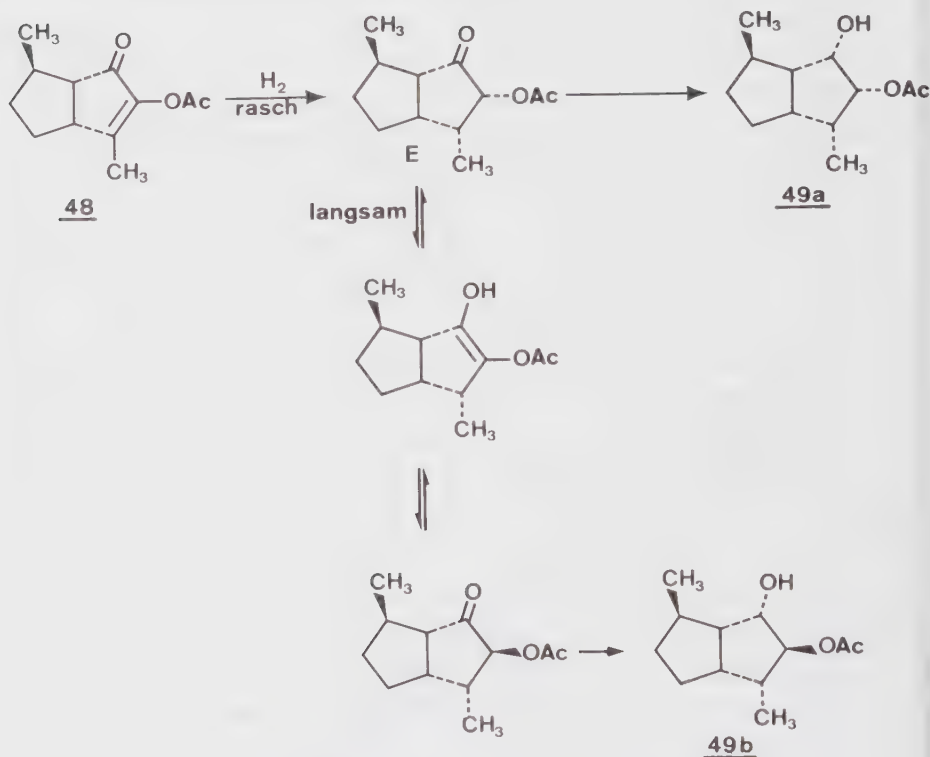
nicht beobachtet, woraus der Schluss gezogen werden kann, dass die Epoxidierung nur ein Isomeres geliefert hat. Um welches Isomeres es sich dabei handelt, kann aufgrund der spektroskopischen Daten nicht gesagt werden. Die Frage ist auch für den weiteren Verlauf der Synthese nicht von Bedeutung.

Oeffnung des Epoxidringes und Wasserabspaltung erfolgte durch Erhitzen von 46 mit Eisessig und Schwefelsäure und lieferte nach Chromatographie und Destillation in 93 % Ausbeute das Enolon 47. Sämtliche spektroskopischen Daten sind im Einklang mit dem Strukturvorschlag für 47. Acetylierung des Enolons 47 erfolgte mit Triäthylamin/Essigsäureanhydrid und 4-Dimethylamino-pyridin (DMAP) als Katalysator [31] . Hinweise für die Richtigkeit der Struktur 48 ergeben sich u. a. aus dem IR.-Spektrum, wo die charakteristischen Banden bei 1770 (ν C=O für Fünfring konjugiert mit Doppelbindung), 1715 und 1662 cm^{-1} erscheinen. Im ^1H -NMR.-Spektrum absorbieren die drei verschiedenen Methylgruppen bei 2, 23 (s, $-\text{COCH}_3$); 1, 92 (s, $\text{CH}_3-\text{C}(3)$) und 1, 10 ppm (d, $J=6, 5$; $\text{CH}_3-\text{C}(8)$).

Hydrierung von 48 in Aethanol mit Platin(IV)-oxid als Katalysator führte zu den O-Acetylderivaten 49a und 49b (88%). Die beiden Produkte sind im DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) als zwei schwach getrennte Flecken erkennbar. Im ^1H -NMR.-Spektrum treten qa bei 5, 15 (ca. 0, 4 H), 4, 71 (ca. 0, 6 H) und 4, 14 ppm (1H) auf, wobei die beiden qa bei tiefem Feld von dem Proton an C(3) in den beiden isomeren Verbindungen herrührt, während das Signal bei 4, 14 ppm vom Proton an C(2) verursacht wird, welches offensichtlich in beiden Isomeren dieselbe chemische Verschiebung aufweist. Ferner erscheinen bei 2, 12 ppm zwei s (ebenfalls etwa im Verhältnis 4 : 6) für die acetylischen CH_3 -Gruppen. Der Unterschied der chemischen Verschiebung beträgt allerdings nur 2 Hz. Aufgrund dieser Angaben ist eine Zuordnung der relativen Konfigurationen in den Isomeren 49a und 49b an den Zentren 2, 3 und 4 nicht möglich. Es hat sich gezeigt, dass sich dieses Problem an den Diolen 50a und 50b besser lösen lässt, die dieselbe relative Konfiguration aufweisen sollten, wie die O-Acetylderivate 49a und 49b. Es wird deshalb auf die Diskussion der Strukturen der beiden Diole 50a und 50b verwiesen, s. u. Eine Erklärung für das Auftreten der Epimerisierung an C(3) geht aus Schema 18 hervor.

Nimmt man eine rasche Hydrierung der Doppelbindung unter Bildung des Ketoacetats E an, so dürfte dessen Umwandlung in 49a und 49b von den relativen Reaktionsgeschwindigkeiten Reduktion der Carbonylgruppe vs. Enolisierung abhängen, wobei drastische Reaktionsbedingungen mehrheitlich 49a, milde Bedingungen dagegen grössere Anteile des Epimeren 49b liefern sollten.

SCHEMA 18. Vorschlag für einen Mechanismus der Epimerisierung von 49a in 49b



Zwei Experimente bestätigen diese Annahme: bei milden Bedingungen (17,5 Std. / 0,34 atü) wird ein hoher Anteil an Epimerisierung festgestellt (ca. 40 % 49b), bei drastischeren Bedingungen (3 Std. / 3,4 atü) nur ca. 10 % epimeres Produkt 49b¹¹⁾.

Die Diole 50a und 50b wurden durch Hydrolyse der O-Acetylderivate 49a und 49b in äthanolischer KOH erhalten (94 %). Die Isomeren 50a und 50b lassen sich leicht chromatographisch trennen (Kieselgel, Aether). Beides sind leicht

11) Die Verteilung der Produkte 49a und 49b bei dieser Reaktion konnte erst anhand der isolierten Diole 50a und 50b bestimmt werden.

kristallisierende Verbindungen von unterschiedlichem Smp.: 50a 51,7 - 52,0° (Wasser), 50b 128,0 - 128,4° (Aether/Pentan). Die signifikanten ^{13}C - und ^1H -NMR.-Daten für die beiden Verbindungen können der Tabelle 2 entnommen werden. Leider hat sich die Hoffnung nicht erfüllt, aufgrund dieser Daten eine eindeutige Zuordnung der relativen Konfigurationen an den C-Atomen 2, 3 und 4 in den Isomeren 50a und 50b vornehmen zu können. Glücklicherweise erhielt man nach intensiven Bemühungen von beiden Epimeren 50a und 50b Kristalle, die für die Röntgenstrukturanalyse geeignet waren.

Die Analyse für die Verbindung 50b liegt inzwischen vor¹²⁾ und soll im folgenden gemeinsam mit den NMR.-Daten diskutiert werden.

Das Diol 50b weist die folgenden Kristalldaten auf: Formel $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$, $M = 170,25$; Kristallsystem tetragonal, Raumgruppe $P_{4,2,2}$; Zellkonstanten ($\text{\AA}$) $a = 6,500$, $b = 6,500$, $c = 45,992$. Die Elementarzelle von $1943,162 \text{ \AA}^3$ enthält 8 Moleküle; Kristalle farblos.

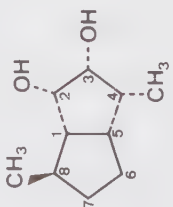
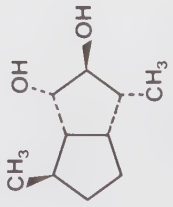
Diffraktometerdaten: Die zur Strukturbestimmung notwendigen Beugungsintensitäten (803) wurden mit einem Picker-Vierkreis-Diffraktometer (ω -Scan) gemessen. Messbereich $0 - 125^\circ (2\theta)$, Messtemperatur 22° , Strahlung CuK_α . Bestimmung der Struktur. Anzahl gemessener Reflexe 841. Mit 803 zur Raumgruppe gehörenden Reflexen wurde gerechnet; Anzahl als beobachtet angenommene Reflexe 803 (95 %). Die Phasenbestimmung wurde mit Hilfe einer direkten Methode und Tangensformelverfeinerung durchgeführt. Es wurden die Computer-Programme MULTAN 78 und SHELX 76 verwendet. Der Satz mit der besten Wahrscheinlichkeit führte über eine Fourierberechnung zur Struktur. Der R-Wert betrug 0,058.

Alle Atomparameter, mit Ausnahme derjenigen der Wasserstoffatome, wurden anisotrop verfeinert. Die berechneten Parameter der H-Atome wurden in der "kleinste-Quadrate"-Verfeinerung als variable Grössen mitgeführt. Sie konnten in einer Differenz-Fourier-Berechnung ohne weiteres identifiziert werden.

12) Folgenden Herren sei für die Vermessung und Auswertung gedankt:

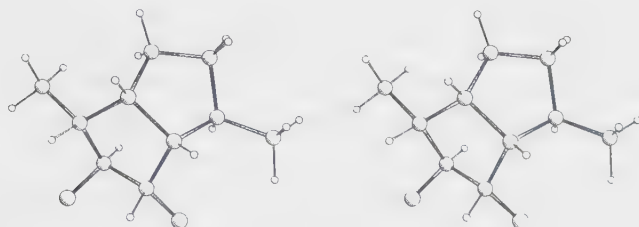
Dr. J. H. Bieri, Universität Zürich, und J. P. Declercq, G. Germain, M. van Meerssche, Université de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgien.

TABELLE 2. Signifikante ^{13}C - und ^1H -NMR.-Daten der Diole 50a und 50b

Diol	^{13}C -NMR. a)		^1H -NMR. a)	
	$\text{CH}_3\text{-C}(4)$	$\text{CH}_3\text{-C}(8)$	H-C(2)	H-C(3)
 <u>50a</u>	10, 4 (qa) $J_{\text{C,H}} = 126, 3$	21, 1 (qa) $J_{\text{C,H}} = 125, 8$	4, 15 (dxdd) $J = 9/4, 3$	3, 83 (t) $J = 4, 3$
				2, 49 (quintet) $J = 9, 3$
 <u>50b</u>	12, 5 (qa) $J_{\text{C,H}} = 123, 7$	21, 0 (qa) $J_{\text{C,H}} = 124, 5$	3, 88 (t) $J = 8, 6$	3, 41 (t) $J = 10, 4$
				2, 42 (quintet) $J = 9$

a) vgl. Fussnoten 7) und 9).

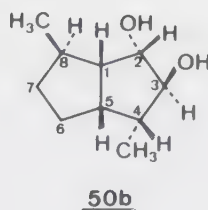
ABB. 2. Räumliche Gestalt von Diol 50b



Die räumliche Gestalt der Molekel ist aus Abb. 2 ersichtlich. Dabei fällt auf, dass die beiden Fünfringe nicht planar sind. C-Atom 3 ist stark, C-Atome 2 und 4 etwas weniger stark aus einer Ebene gedreht, die man sich durch die C-Atome 1 bis 5 denken kann. Dasselbe gilt für den andern Fünfring d.h. für C-Atom 7 (stark), 6 und 8 (weniger stark). Für die Interpretation der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren waren vor allem die Diederwinkel interessant. Die wichtigsten sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

TABELLE 3. Diederwinkel im Diol 50b, wie sie aufgrund der Röntgenstrukturdaten berechnet wurden

Betrachteter Winkel	Betrag in Grad
H-C(1)-C(2)-H	33
H-C(1)-C(5)-H	2
H-C(2)-C(3)-H	161
H-C(3)-C(4)-H	161
H-C(4)-C(5)-H	32
H-C(5)-C(6)-H(1)	18
H-C(5)-C(6)-H(2)	139
H-C(2)-C(3)-OH	45
HO-C(3)-C(4)-H	45



Die Winkel zwischen den Protonen an C(2), C(3) und C(4) von je 161° erklären die grossen Kopplungskonstanten (8 bzw. 10 Hz), die beobachtet wurden. Ebenso resultiert eine grosse Kopplung des Protons an C(2) zu demjenigen an C(1) und des Protons an C(4) zu demjenigen an C(5) (Diederwinkel 33° bzw. 32°). Für den Strukturvorschlag des Diols 50a wären nun folgende Kopplungskonstanten zu erwarten (unter der Annahme, dass dieselbe Konformation der beiden Ringe wie in 50b vorliegt): für H-C(3) je eine kleine Kopplung zu den Protonen an C(2) und C(4), da hier der Diederwinkel etwa 45° beträgt; die Kopplungen zwischen dem Proton an C(2) und demjenigen an C(1), sowie diejenige zwischen H-C(4) und H-C(5) sollten unverändert gross sein (Diederwinkel 33° bzw. 32°). Dies wird tatsächlich beobachtet und stützt, nebst den nachfolgenden aus dem ^{13}C -NMR. -Spektrum abgeleiteten Argumenten, den Strukturvorschlag.

Im ^{13}C -NMR. -Spektrum des Diols 50a sollte sich der intramolekulare Einfluss der OH-Gruppe auf das Signal der Methylgruppe an C(4) bemerkbar machen (im Gegensatz zu 50b!). Dies wird auch beobachtet, absorbiert doch die betreffende Methylgruppe in 50a bei höherem Feld und weist eine etwas grössere C,H-Kopplungskonstante auf als 50b. Die Effekte sind jedoch relativ klein, sodass angenommen werden muss, dass die gegenseitige Beeinflussung der Hydroxygruppe an C(3) und der Methylgruppe an C(4), offenbar aus konformativen Gründen, klein ist.

Folgendes chemisches Argument kann noch für die Struktur 50a angeführt werden: Mit grosser Wahrscheinlichkeit kann angenommen werden, dass bei der Hydrierung von 48 der Angriff des Wasserstoffs von der exo-Seite des bicyclischen Systems her und dass die Addition cis erfolgt. Dies würde als Hauptprodukt ein O-Acetylderivat bzw. ein Diol mit der vorgeschlagenen Stereochemie liefern.

Der letzte Schritt in der Synthese des Iridodials (1a) bildet die Spaltung der Diole 50a und 50b mit Natrium-metaperjodat in Aethanol/Wasser, die für beide Diole zum gleichen Produktgemisch führt. Offenbar sind die im folgenden beschriebenen Probleme bei der von Achmad & Cavill [28] ausgeführten Synthese nicht aufgetreten, da direkt nach der Aufarbeitung der Perjodat-Spaltung destilliert wurde.

Im DC. (Kieselgel, Aether) der Reaktionsmischung beobachtet man zwei

Flecken mit den Rf-Werten 0,7 (Produkt F) und 0,3 (Produkt G), wobei ersteres identisch ist mit dem Iridodial (1b) der Synthese nach Clark et al. Im GC. dagegen geben die mittels präp. DC. isolierten Produkte F und G einen Pik mit identischer Retentionszeit; dieses Verhalten korrespondiert mit der Beobachtung, dass G nach Destillation einen im DC. -Vergleich mit F identischen Fleck mit Rf-Wert 0,7 ergibt. Das Produkt F zeigt im DC. -Verhalten keine Veränderung nach der Destillation. Die Stabilität von F und G in Lösung (abs. Pentan, abs. Acetonitril) bei -20° ist dadurch gekennzeichnet, dass G gemäss DC. -Kontrolle langsam in F übergeht, während F stabil bleibt. Die in der Tabelle 4 angegebenen charakteristischen spektroskopischen Daten für F und G erlauben folgende Interpretation:

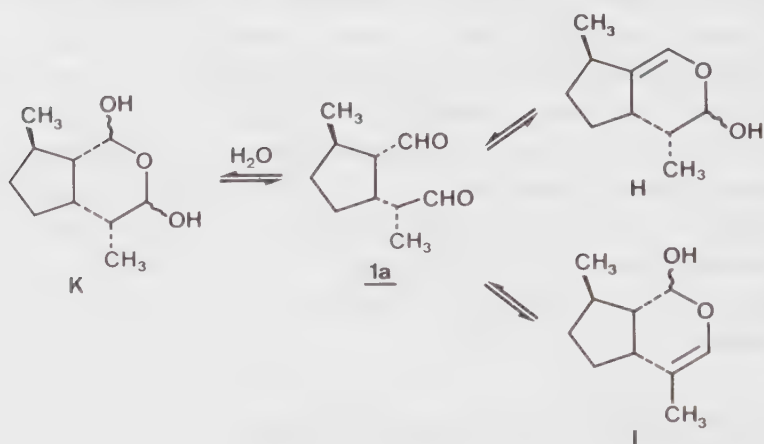
TABELLE 4. Spektroskopische Daten der Produkte F und G.

Verbindung	IR. (CHCl_3) cm^{-1}	$^1\text{H-NMR}$ ppm
Produkt F destilliert	3590	9,72 d, J=3 CHO
	3420	9,62 d, J=2 CHO
	1725	4,75 d, J=8,5
		4,46 d, J=4
		4,18 - 3,32 m
		2,60 - 0,90 m
Produkt G destilliert	3590	9,78 d, J=3 CHO
	3400	9,68 d, J=2 CHO
	1723	2,88 - 1,20 m
		1,20 d, J=6 $\text{CH}_3\text{-C}(4)$ oder $\text{C}(8)$
		1,10 d, J=7 $\text{CH}_3\text{-C}(8)$ oder $\text{C}(4)$

Bei Verbindung F und destilliertem G handelt es sich offensichtlich um Iridodial (1a), das in Lösung teilweise als Lactol H bzw. 13 vorliegt (Schema 19).

13) Diese Ansicht wird u. a. auch von Inouye et al. [27] vertreten.

SCHEMA 19. Hypothetische Gleichgewichte von Iridodial (1a) in Lösung



Für die nicht destillierte Komponente G, die entsprechend ihrem DC.-Verhalten wesentlich polarer als Iridodial (1a) bzw. die Lactole H und I sein muss, könnte die Struktur K in Frage kommen. Dieser Vorschlag ist hypothetisch, da es aus zeitlichen Gründen¹⁴⁾ nicht gelungen ist, ein definiertes Derivat von K darzustellen: Acetylierung und Methylierung von undestilliertem G ergaben auch nach chromatographischer Reinigung gemäss ¹H-NMR.-Spektren Gemische.

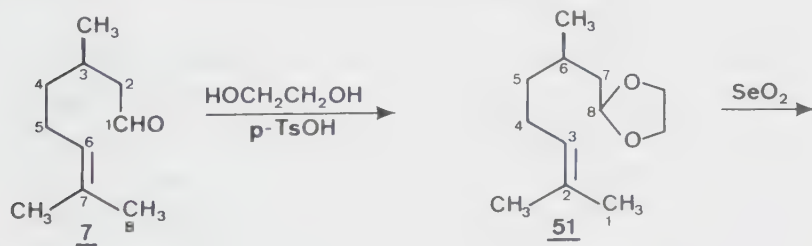
Zur Verdünnung des aus *Tapinoma nigerrimum* Nyl. isolierten radioaktiven Iridodials (1) wurden die Produkte F und G destilliert und das gebildete DC.- und GC.-reine Iridodial (1a) verwendet.

14) Dieses Problem wird von Dr. W.-D. Woggon weiter untersucht.

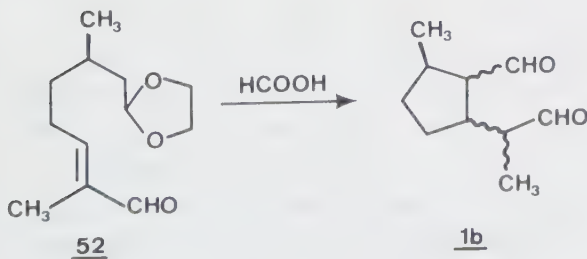
3.2. Iridodial-Synthese nach Clark et al. [32] (Schema 20)

Im Gegensatz zu der in 3.1. ausgeführten stereospezifischen Synthese nach Achmad & Cavill [28] liefert die in Schema 20 dargestellte relativ kurze Reaktionssequenz nach Clark et al. [32] ein Gemisch von stereoisomeren Iridodialen. Gemäss GC.-Analyse enthielt die Mischung die erwarteten acht Isomeren, wobei drei Isomere mit kürzeren Retentionszeiten nur 3 % ausmachen, während 97 % der Mischung auf fünf Isomere mit längeren Retentionszeiten entfallen, die im Verhältnis 11,5 : 23,5 : 38,5 : 9,0 : 17,6 vorliegen (Reihenfolge mit zunehmender Retentionszeit). Die spektroskopischen Daten für die Zwischenprodukte stimmen mit den Strukturvorschlägen überein. Das Iridodial (1b) zeigt im IR.-Spektrum eine starke Bande bei 1720 cm^{-1} und im ^1H -NMR.-Spektrum die erwarteten zwei d bei 9,82 und 9,68 ppm für die Aldehydprotonen, sowie zwischen 3,00 und 1,27 ppm m für die Methylenprotonen. Zwischen 1,27 und 0,90 ppm zeigen sich die verschiedenen d für die Methylgruppen der einzelnen Isomere.

SCHEMA 20. Iridodial-Synthese nach Clark et al.



D-(+)-Citronellal



Das so erhaltene Stereoisomerengemisch von Iridodial (1b) wurde als Ausgangsmaterial für den unter 4. beschriebenen inaktiven Abbau von 1c verwendet, da dessen Umsetzung mit NaOH nachweislich [3, 32] - wenn auch mit kleineren Ausbeuten - über das gleiche Zwischenprodukt Isoiridomyrmecin (3) führt, wie der Abbau mit Iridodial (1a).

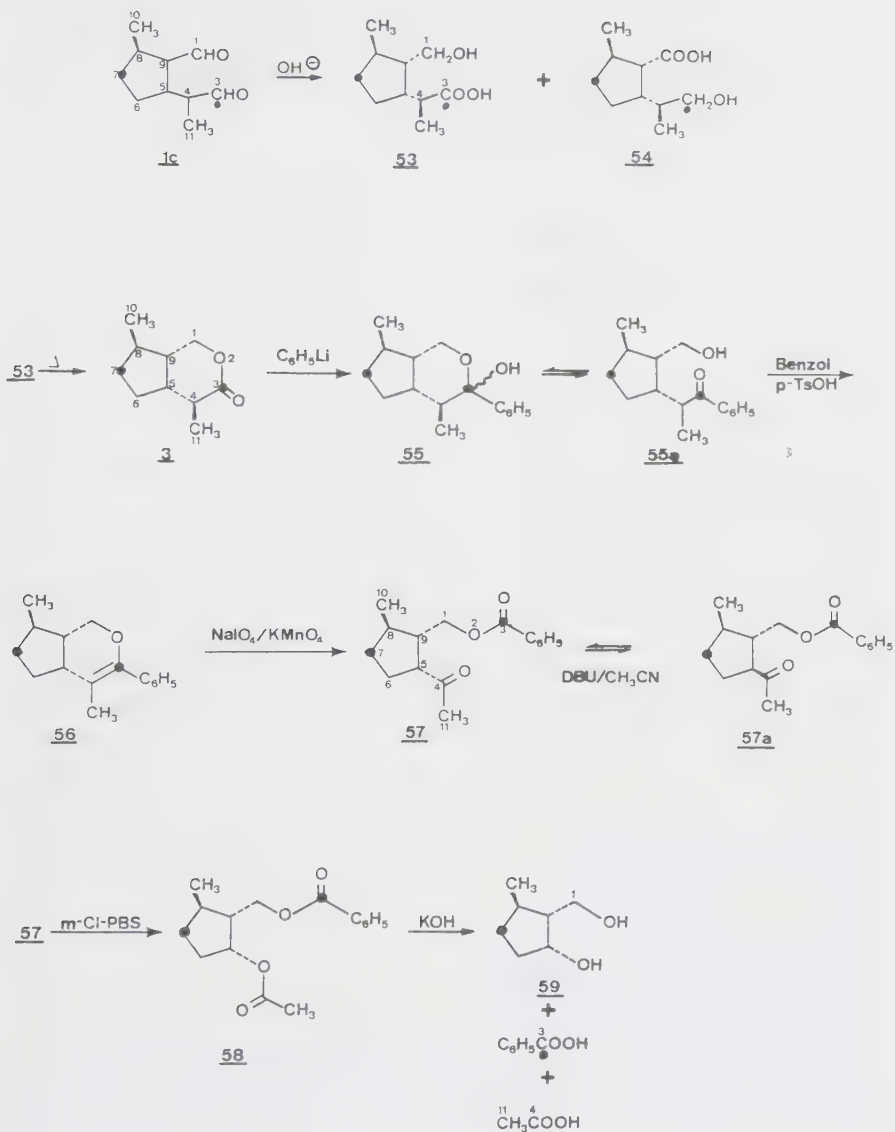
4. ABBAU VON IRIDODIAL (1c)

Nach Applikation von 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) war die im Schema 21 dargestellte Verteilung der Radioaktivität im Iridodial (1c) zu erwarten.

Das Ziel des geplanten Abbaus war demnach eine Separierung von C(3) und C(11) bzw. C(7) und C(10) des Iridodials (1c) zu erreichen, um sowohl die Spezifität des Mevalonat-Einbaus als auch die Frage einer möglichen Aequilibrierung beurteilen zu können. Da zur Charakterisierung der Abbauprodukte die ¹H-NMR.-Spektren entscheidend waren, werden die wichtigsten Signale in Tabelle 5 zusammengestellt.

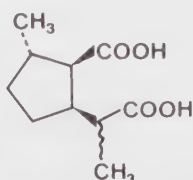
Da Iridodial (1) eine instabile, leicht polymerisierende Verbindung ist, war es von Vorteil, sie sofort in ein kristallines Derivat zu überführen. Dies gelang mit einer intramolekularen Cannizzaro-Reaktion, die im Zweiphasensystem mit Tetrabutylammonium-hydrogensulfat als Phasentransfer-Katalysator durchgeführt wurde [33]. Bei Verwendung des Iridodials (1b) aus der Synthese nach Clark et al. , GC.-Analyse vgl. Seite 37, wurde aus der Mischung von - theoretisch zehn möglichen - gebildeten Hydroxysäuren durch Kristallisation in Wasser eine schwerlösliche Säure in 13 - 17 % erhalten, der aufgrund der ¹H-NMR.-Daten die Struktur 53 zugeordnet wurde. Wie der Tabelle 5 zu entnehmen ist, absorbiert H-C(4) der Hydroxysäure 53 bei 2,62 - 2,36 ppm. Wird bei 2,46 ppm eingestrahlt, so fällt das d der Methylgruppe bei 1,05 ppm zu einem s zusammen; damit kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei der Verbindung um die Hydroxysäure 54 handelt. Destillation von 53 lieferte in 90 - 92 % Ausbeute Isoiridomyrmecin (3). Diese Verbindung ist schon mehrfach in der Literatur beschrieben worden und die gefundenen physikalischen Daten stimmen sehr gut damit überein:

SCHEMA 21. Abbau von Iridodial (1c)¹⁵⁾

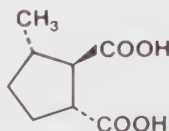


15) Numerierung von Isoiridomyrmecin (3) wird beibehalten. Im experimentellen Teil wird jedoch Numerierung nach IUPAC verwendet, vgl. Schema 23.

Smp. 56,3 - 56,8° (56 - 57° [34, 35]); $[\alpha]_D = +61,1^\circ$ ($c=1,147$, CCl_4 ; $[\alpha]_D = +59^\circ$ [34, 35]). Die relativen Konfigurationen an den C-Atomen 4, 5, 8 und 9 waren zum Teil durch chemische Korrelation mit isomeren Nepetalin- bzw. Nepetinsäuren bestimmt worden [36] und wurden durch eine Röntgenkristallstrukturbestimmung bestätigt [37] .



Nepetalinsäure



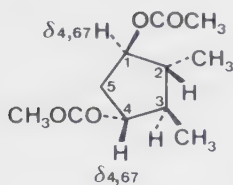
Nepetinsäure

Zusammen mit den spektroskopischen Evidenzen dürfte die Struktur 3 als gesichert betrachtet werden.

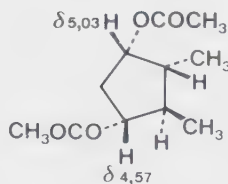
Umsetzung des Isoiridomyrmecin (3) mit Phenyllithium ergab in 71 % Rohausbeute die Hydroxyverbindung 55. Wie im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum beobachtet wird, steht Verbindung 55 im Gleichgewicht mit der offenen Form 55a, die zu etwa 10 % vorliegt. Diese Tatsache äussert sich auch in der Zeitabhängigkeit des optischen Drehwertes ($[\alpha]_D$ nach 30 Min. = $-90,6^\circ$; nach 180 Min. = -124°). Daneben konnte in etwa 6 % Ausbeute die Verbindung 56 isoliert werden. Die Wasserabspaltung aus 55 erfolgte mit katalytischen Mengen p-Toluolsulfonsäure in abs. Benzol (92 %). Spaltung von 56 mit Kaliumpermanganat/Natriummetaperjodat in wässrigem tert.-Butylalkohol führte in ca. 53 % Ausbeute zum Ketoester 57. Es wäre denkbar, dass bei dieser Reaktion eine Epimerisierung an C-Atom 5 eintreten könnte. Es wird jedoch nur ein Produkt erhalten, welches auch im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nur ein Signal für das Proton an C(5) zeigt. Wie aus den Modellverbindungen 60 und 61 [38] (Schema 22) entnommen werden kann, wäre ein Unterschied in der chemischen Verschiebung des cis- und des trans-ständigen Wasserstoffs an C(5) von etwa 0,4 ppm zu erwarten. Dabei müsste das trans-ständige H bei höherem Feld absorbieren. Es gelang nun die Verbindung 57 in ihr Epimeres 57a zu überführen¹⁶⁾.

16) Dieser Versuch wurde von Dr. W.-D. Woggon durchgeführt.

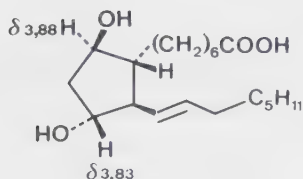
SCHEMA 22. Modellverbindungen zur Interpretation der ^1H -NMR.-Spektren (aus [38])



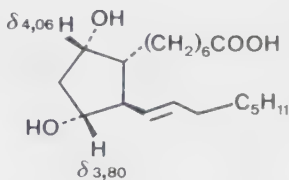
60



61



62



63

Das Proton an C(5) absorbierte nun bei 2,87 ppm, was eindeutig auf die trans-Verbindung schliessen lässt¹⁷⁾. Die Annahme, dass während der Reaktion von 56 zu 57 keine Epimerisierung eintritt, war also berechtigt.

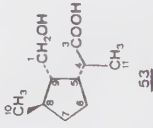
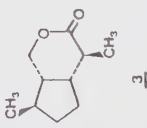
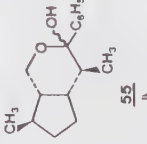
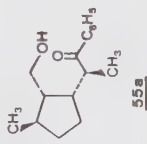
Baeyer-Villiger-Oxydation mit m-Chlorperbenzoesäure lieferte den Diester 58 (81 %). Es konnte bestätigt werden, dass diese Oxydation unter Retention der Konfiguration verläuft [39], wie ebenfalls aus den ^1H -NMR.-Spektren ersichtlich ist.

Schliesslich führte Hydrolyse des Diesters 58 zu den Endprodukten Essigsäure, Benzoesäure und Diol 59. Die Struktur des Diols 59 kann durch Vergleich mit den ^1H -NMR.-Spektren der Prostaglandine 62 und 63 [38] (Schema 22), die hier als Modell dienen können, bestätigt werden.

Ueber alle Abbaureaktionen wird also die relative Konfiguration an den C-Atomen 5, 8 und 9 nicht verändert.

17) Wir danken Herrn Dr. E. Billeter, Socar AG, Dübendorf, für ein 360 MHz- ^1H -NMR.-Spektrum.

TABELLE 5. Signifikante $^1\text{H-NMR}$ -Daten aus den Spektren der Produkte 53 bis 59 des Iridodialabbaus^{a)}

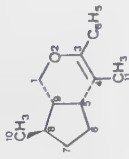
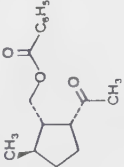
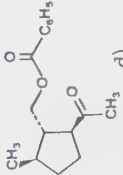
Verbindung	arom. H	H_2 -C(1) AB-Teil eines ABX-Systems	H-C(4)	H-C(5)	CH_3 -C(4)	CH_3 -C(8)
 53	-	4, 38(dxd, J=10, 5/6; 1H) 4, 07(t, J=10, 5; 1H)	2, 62- 2, 36 (m)	- ^{b)}	1, 05 (d, J=7)	0, 97 (d, J=6)
 3	-	4, 37(dxd, J=11/6, 5; 1H) 3, 99(t, J=11; 1H)	2, 35 (octet)	- ^{b)}	1, 23 (d, J=6, 5)	1, 09 (d, J=6, 8)
 55	7, 60-7, 20 (m, 4, 5H)	4, 27(dxd, J=12/4; 1H) 3, 74(dxd, J=12/2; 1H)	- ^{b)}	- ^{b)}	1, 04 (d, J=7)	0, 70 (d, J=7)
 55a	8, 07-7, 92 (m, 0, 5H)	3, 95 - 3, 44 (m)	- ^{b)}	- ^{b)}	1, 15 (d, J=7, 5)	1, 04 (d, J=6)

a) vgl. Fussnoten 7) und 9).

b) konnte nicht lokalisiert werden

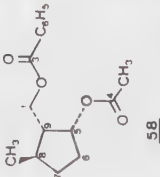
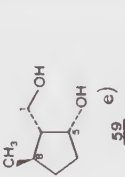
c) OH bei 3, 34 und 2, 22 ppm

TABELLE 5. (Fortsetzung)

Verbindung	arom. H	H ₂ -C(1) AB-Teil eines ABX-Systems	H-C(4)	H-C(5)	CH ₃ -C(4)	CH ₃ -C(8)
 56	7, 47-7, 20 (m, 5H)	4, 00(dxd, J=10, 5/4, 5; 1H) 3, 67(dxd, J=10, 5/7, 5; 1H)	-	2, 50 (qa, J=7, 5)	1, 70 (s)	1, 08 (d, J=6)
 57	8, 08-7, 88 (m, 2H) 7, 68-7, 23 (m, 3H)	4, 50-4, 05 (m, 2H)	-	3, 20 (qa, J=7)	2, 13 (s)	1, 04 (d, J=6)
 57a	8, 02-7, 97 (m, 2H) 7, 59-7, 53 (m, 2H) 7, 47-7, 42 (m, 2H)	4, 39(dxd, J=11/5; 1H) 4, 24(dxd, J=11/7; 1H)	-	2, 87 (qa, J=9)	2, 18 (s)	1, 11 (d, J=6)

d) 360 MHz

TABELLE 5. (Fortsetzung).

Verbindung	arom. H	H ₂ -C(1) AB-Teil eines ABX-Systems	H-C(4)	H-C(5)	CH ₃ -C(4)	CH ₃ -C(8)
	8, 10-7, 93 (m, 2H) 7, 66-7, 20 (m, 3H)	4, 50 - 4, 15 (m, 2H)	-	5, 47-5, 25 (m)	1, 93 (s)	1, 08 (d, J=6)
	-	4, 01 - 3, 60 (m, 2H)	-	4, 53-4, 33 (m)	-	0, 97 (d, J=6)

e) OH bei 2, 33 ppm

5. EINBAUVERSUCHE MIT 2-¹⁴C-MEVALONAT IN TAPINOMA
NIGERRIMUM NYL.

1 mCi 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) war zusammen mit toten Grillen an ein Ameisenvolk von *Tapinoma nigerrimum*¹⁸⁾ verfüttert worden. Während einer Woche waren immer kleine Portionen des radioaktiven Vorläufers gegeben worden. Danach wurden die Ameisen durch Einfrieren getötet und mit Pentan extrahiert. Nach GC. enthielt der Extrakt zwei Isomere des Iridodials (1) im Verhältnis 52 : 48, wobei der Pik mit längerer Retentionszeit (52 %) mit dem Isomeren der Synthese nach Achmad & Cavill identisch war.

Ein Radiodünnschichtchromatogramm des Pentanextraktes zeigte, dass mehr als 90 % der Radioaktivität dem Iridodial-Fleck zuzuordnen war, demzufolge verdünnte man mit der zur Durchführung des Abbaus notwendigen Menge Iridodial - aus der Synthese nach Achmad & Cavill - und setzte wie unter 4. beschrieben zum Isoiridomyrmecin (3) um, das bis zur konstanten spezifischen Aktivität gereinigt wurde.

Leider war die spezifische Aktivität von 3 zu gering, um dieses abzubauen. Die niedrige Einbaurate (0,05 %) kann einerseits darauf zurückzuführen sein, dass sich Mevalonsäure (10) aus unbekannten Gründen nicht als Vorläufer eignet, andererseits werden Monoterpene im Organismus rasch metabolisiert [16]. Verglichen mit den Einbauraten, die von anderen Autoren [7, 8] in Insekten gefunden wurden, kann doch gesagt werden, dass 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-18) höchstwahrscheinlich von den Insekten in Iridodial (1) eingebaut wird. Ob dies in spezifischer Art und Weise geschieht, oder ob eine Aequilibrierung stattfindet, konnte leider im Rahmen dieses Experimentes nicht abgeklärt werden.

18) Wir danken Herrn Dr. S. Huwyler, Universität Zürich, für die Angabe des Fundortes.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Bemerkungen

Falls nicht anders angegeben gelten:

Bestimmung der Smp. auf Mettler-FP/2-Gerät.

Optische Drehungen auf Carl Zeiss/LEP A2-Gerät.

UV.-Spektren (Unicam SP 800 oder Perkin-Elmer 555) in 99,5proz. Aethanol;

Angaben von λ_{max} in nm ($\log \epsilon$).

IR.-Spektren (Perkin-Elmer 21) in CHCl_3 ; Angaben in cm^{-1} , Sch=Schulter.

^1H -NMR.-Spektren (Varian T 60, Varian HA 100, Varian EM-390, Varian HXS 360) in CDCl_3 ; chemische Verschiebungen (Bereiche oder Signalzentren) in ppm relativ zu Tetramethylsilan als internem Standard = 0; s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, qa = Quadruplett, m = Multipllett, br. = breit; Kopplungskonstanten J in Hz.

Als Verschiebungsreagens gelangte Europium-tris-(1, 1, 1, 2, 2, 3, 3-heptafluor-7, 7-dimethyl-4, 6-octadionat) = $\text{Eu}(\text{fod})_3$ zur Anwendung; es wurden vier Portionen genau eingewogener Mengen $\text{Eu}(\text{fod})_3$ zur Probe gegeben; Substratkonzentration 1 M in CDCl_3 ; Konzentrationsbereich $[\text{Eu}(\text{fod})_3] / [\text{Substrat}]$ 0 - 0,04; die Bestimmung der LIS-Werte erfolgte graphisch nach [40] (siehe auch Abb. 1).

^{13}C -NMR.-Spektren (Varian XL 100) bei 25,2 MHz; Angaben der Resonanzlinien des rauschentkoppelten Spektrums.

Massenspektren (MS.) (Varian MAT-711) bei 70 eV, Direkteinlass; Angaben in m/e (rel. %).

Analytische Gas-Chromatogramme (GC.) an C. Erba-Geräten Fractovap GI (FID) unter Verwendung folgender Glaskapillarkolonne nach Grob [41] :

SE-52 (18 m x 0,28 mm); Trägergas; Wasserstoff. Quantitative Auswertungen erfolgten mit einem elektronischen Integrator (Infotronics CRS-101); die angegebenen Werte stellen Mittel aus mindestens drei Chromatogrammen dar.

Analytische Dünnschichtchromatogramme (DC.) an Kieselgel HF_{254} (Merck); Sprühreagenzien; 1proz. sodaalkalische KMnO_4 -Lösung, 0,04proz. äthanolische Bromkresolgrün-Lösung (mit 0,10 N NaOH auf Umschlagspunkt eingestellt), wässrige Lösung von Methylrot/Borax.

Präparative Dünnschichtchromatographie (präp. DC.) an Kieselgel PF₂₅₄ (Merck).
Säulenchromatographie an Kieselgel Merck 0,063 - 0,200 mm; Angabe von
Elutionsmittelgemischen in Volumenprozent.

Abdampfoperationen im RV. bei 14 Torr.

Destillation kleiner Substanzmengen im Kugelrohr bei den angegebenen Drucken
und Luftbadtemperaturen.

Uebliche Aufarbeitung: Extraktion mit Aether, trocknen über MgSO₄, filtrieren
und eindampfen.

Radioaktivitätsmessungen in einem Flüssigkeitsscintillationszähler, Modell
TRI-Carb (Packard Instruments Co.). Scintillations-Lösung aus 4,0 g PPO
(2,5-Diphenyl-oxazol) und 100 mg POPOP (1,4-Bis-(4-methyl-5-phenyl-oxa-
zol-2-yl)-benzol) in 1000 ml reinem Toluol. Zählabschirmung für ¹⁴C: 75 %.

Radiodünnschichtscanning an einem DC.-Scanner Packard Modell 7200 mit
2π- Geiger-Müller-Durchflussszählrohr, Trägergas: 98,7 % Helium/1,3 % Iso-
butylalkohol.

2-¹⁴C-Mevalonat wurde von Dr. J. Würsch, Hoffmann-LaRoche AG, Basel,
bezogen.

1. STEREOSPEZIFISCHE SYNTHESE VON IRIDODIAL (1)

vgl. Schemata 15 und 16

1.1. Pulegensäure-äthylester (42a und 42b)

1,562 g (10,3 mmol) D-(+)-Pulegon(40) ([α]_D = +23,0°) wurden in 2 ml Eisessig
gelöst, mit Eis auf 0° gekühlt und während 30 Min. 0,49 ml (9 mmol) Brom
zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde noch 30 Min. gerührt und danach die
Reaktionsmischung auf Eiswasser gegossen. Die wässrige Phase wurde mehr-
mals mit Pentan extrahiert, die vereinigten Pentanphasen mit verd. NaHCO₃-
Lösung gewaschen, und wie üblich weiter verfahren. Das rohe Pulegondibro-
mid (41) wurde am HV. getrocknet, dann in Pentan gelöst und zu einer heißen
Lösung von Natriumäthylat in Aethanol (aus 735 mg (32 mmol) Natrium und 15 ml
abs. Aethanol) zugetropft. Nach 2 Std. Erhitzen unter Rückfluss wurde in 15 ml
10proz. Salzsäure gegossen und 5mal mit Aether extrahiert. Die vereinigten
Aetherphasen wurden 2mal mit wässriger NaHCO₃-Lösung und Wasser gewa-

schen, über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand enthielt die Ester 42a und 42b (cis/trans 24 : 76) und 16 % nicht umgesetztes Pulegon (GC.-Analyse), total 1,275 g (63,1 %). Aus der wässrigen Phase konnte nach dem Ansäuern 136 mg (7,8 %) Pulegensäure (43) isoliert werden.

334 mg des Estergemisches wurden durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 9 : 1) gereinigt und anschliessend destilliert ($65^\circ/0,6$ Torr).

- IR.: 1725 (Ester). $^1\text{H-NMR}$. (100 MHz): 4,14(qa, $J=8$, $-\text{OCH}_2-$); 3,41 (d, $J=7$, 0,22 H, $\text{H-C}(1)$ 42a); 2,96 (d, $J=6$, 0,72 H $\text{H-C}(1)$ 42b); 2,52 - 1,75 (m, 5H, $\text{H}_2-\text{C}(3)$, $\text{H}_2-\text{C}(4)$, $\text{H-C}(5)$); 1,66 und 1,62 (2xbr. s, $2\times\text{CH}_3-\text{C}(7)$); 1,26 (t, $J=8$, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$); 1,06 (d, $J=6$, $\text{CH}_3-\text{C}(5)$). - MS.: 196 (M^+ , 18), 124(10), 123 (100), 107(15), 81(37), 79(10), 77(7), 67(8), 55(6), 43(10), 41(11).

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$ (196,29)	Ber.	C 73,42	H 10,27 %
	Gef.	C 73,22	H 9,99 %

1.2. Pulegensäure (43)

50 g (0,255 mol) Estergemisch 42a und 42b wurden in 250 ml Aethanol gelöst und mit 12,05 g (0,215 mol) KOH in 100 ml Wasser versetzt und 3 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser wurde zur Entfernung der Neutralstoffe mehrmals mit Aether extrahiert. Die wässrige Phase wurde darauf mit verd. Salzsäure auf pH 3 gestellt und wie üblich aufgearbeitet. Nach Destillation ($100 - 120^\circ/0,7$ Torr) wurden 23,8 g (56 %) Pulegensäure (43) erhalten. - IR.: 3100 Sch (OH), 1700 (COOH).

$^1\text{H-NMR}$. (100 MHz): 11,58 (br. s, OH); 2,98 (br. d, $J=6$, $\text{H-C}(1)$); 2,50 - 1,20 (m, 5H, $\text{H}_2-\text{C}(3)$, $\text{H}_2-\text{C}(4)$, $\text{H-C}(5)$); 1,67 (s, $2\times\text{CH}_3-\text{C}(7)$); 1,09 (d, $J=7$, $\text{CH}_3-\text{C}(5)$). - MS.: 168 (M^+ , 22), 125(14), 124(12), 123(88), 122(20), 121(10), 109(10), 108(15), 107(59), 105(22), 95(15), 93(20), 91(40), 81(100), 79(57), 77(22), 69(14), 67(30), 65(12), 57(13), 55(15), 53(13), 51(10), 44(43), 43(20), 41(28).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (168,23)	Ber.	C 71,39	H 9,58 %
	Gef.	C 71,12	H 9,32 %

1.3. Umsetzung der Pulegensäure (43) mit Diazomethan

93 mg (0,554 mmol) Säure 43 wurden bei RT. in abs. Aether gelöst und mit einem Ueberschuss Diazomethan versetzt, das nach [42] hergestellt worden war. Nach Filtration des Reaktionsgemisches über Kieselgel und Abdampfen des Lösungsmittels wurden 96 mg (95 %) DC. -reiner Pulegensäure-methylester erhalten. -IR.: 1722 (Ester). - ^1H -NMR. (100 MHz): 3,66 (s, OCH_3); 3,02 (d, $J=6$, H-C(1)); 2,52 - 1,87 (m, H_2 -C(3), H_2 -C(4), H-C(5)); 1,70 und 1,61 (2xs, $2\times\text{CH}_3$ -C(7)); 1,07 (d, $J=6$, CH_3 -C(5)). -MS.: 182 (M^+ , 17), 124(10), 123(100), 122(30), 121(8), 108(9), 107(35), 95(15), 93(12), 91(15), 81(83), 79(26), 77(11), 69(7), 67(19), 65(7), 57(10), 55(10), 43(13), 41(20).

1.4. 3-Oxa-4,4,8-trimethyl-bicyclo[3.3.0] octan-2-on (44)

23,0 g (0,126 mol) Säure 43 wurden in 122 ml Methanol gelöst, mit 43 ml 10 N Salzsäure versetzt und 8 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser wurde wie üblich aufgearbeitet. Nach Destillation (100°/1,5 Torr) wurden 18,4 g (80 %) Lacton 44 isoliert. - $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +12^\circ$ ($c = 1,066$; CHCl_3). - IR.: 1760, 1750 (Lacton). - ^1H -NMR. (100 MHz): 2,88 - 1,20 (m, H-C(1), H-C(5), H-C(8), H_2 -C(6), H_2 -C(7)); 1,40 (s, $2\times\text{CH}_3$ -C(4)); 1,18 (d, $J=7$, CH_3 -C(8)). - MS.: 168 (M^+ , 2), 153(17), 109(27), 91(11), 82(32), 81(100), 80(10), 79(20), 77(10), 69(13), 67(73), 59(9), 55(11), 53(12), 43(12), 41(37).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (168,23)	Ber.	C 71,39	H 9,58 %
	Gef.	C 71,13	H 9,61 %

1.5. 4,8-Dimethyl-bicyclo[3.3.0] oct-3-en-2-on (45)

21 ml 90proz. Phosphorsäure und 53 g Phosphorpentoxid wurden zusammengegeben und auf 100° erhitzt. Unter kräftigem Rühren wurden 8,80 g (52 mmol) Lacton 44 zugetropft. Die Reaktionsmischung färbte sich zuerst gelb, dann dunkelrot. Nach beendeter Zugabe wurde noch 4 Std. bei 100° weiter gerührt und danach auf Eis gegossen, mit Wasser verdünnt und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde durch Chromatographie (Kieselgel, Pentan/Aether 4 : 1,

dann Aether) gereinigt. Es wurden 3 Fraktionen à 250 ml aufgefangen. Das Produkt 45 konnte aus Fraktion 3 isoliert und anschliessend destilliert (80 - 90°/ 5 - 7 Torr) werden; 981 mg (12,6 %). - $[\alpha]_D^{20} = +73,4^\circ$ ($c = 1,473$; CHCl_3). - IR.: 1630, 1460, 1380. - UV.: 232 (4,09). - $^1\text{H-NMR}$. (100 MHz): 5,78 (br. s, H-C(3)); 3,34 - 3,08 (m, H-C(5)); 2,38 (dxd, $J=6/4$, H-C(1)); 2,31 - 1,22 (m, $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H}_2\text{-C}(7)$, H-C(8)); 2,10 (s, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$); 1,08 (d, $J=7$, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$). $^1\text{H-NMR}$. (100 MHz) in Gegenwart von Eu(fod)_3 (30 mg 45 + 10,95 mg Eu(fod)_3): 6,15 (s, H-C(3)); 3,40 - 3,12 (m, H-C(5)); 2,90 (dxd, $J=6/4$, H-C(1)); 2,64 - 2,25 (m, H-C(8)); 2,17 - 1,10 (m, $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H}_2\text{-C}(7)$); 2,00 (s, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$); 1,06 (d, $J=7$, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$). Entkopplungen: 3,24 $\rightarrow$ 1,06 (d, keine Veränderung); 2,47 $\rightarrow$ 1,06 (s); 2,90 $\rightarrow$ 3,24 (br. d) und 2,47 (Veränderung). LIS-Werte: H-C(1) 16,6; H-C(3) 14,8; H-C(5) 7,3; $\text{CH}_3\text{-C}(8)$ 5,3. - MS.: 150 (M^+ , 83), 135 (78), 122(49), 121(24), 117(17), 109(59), 108(100), 107(24), 96(44), 95(27), 93(20), 91(24), 81(15), 80(20), 79(49), 77(20), 57(22), 55(15), 45(12), 43(9), 41(8).

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$ (150, 22)	Ber.	C 79,95	H 9,39 %
	Gef.	C 79,88	H 9,43 %

1.6. 3,4-Epoxi-4,8-dimethyl-bicyclo[3.3.0] octan-2-on (46)

207 mg (1,38 mmol) 45 wurden in 5 ml Methanol gelöst, auf 0° gekühlt, mit 0,067 ml 4 N NaOH und 0,31 ml 30proz. Wasserstoffperoxid versetzt und 48 Std. bei 0° stehen gelassen. Danach wurde in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Destillation (80 - 100°/2 Torr) lieferte 159 mg (69 %) Epoxid 46. - $[\alpha]_D^{20} = -79,0^\circ$ ($c = 1,01$; CHCl_3). - IR.: 1740, 1466, 1405, 1264, 1210. $^1\text{H-NMR}$. (100 MHz): 3,22 (s, H-C(3)); 2,96 (qa, $J=8$, H-C(5)); 2,32 (dxd, $J=8/5$, H-C(1)); 2,23 - 1,20 (m, $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H}_2\text{-C}(7)$, H-C(8)); 1,55 (s, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$); 1,13 (d, $J=7$, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$). - MS.: 166 (M^+ , 10), 165(14), 164(11), 137(15), 135(25), 125(10), 124(20), 123(20), 122(15), 121(20), 109(100), 108(34), 107(25), 105(20), 99(10), 98(11), 97(15), 96(21), 95(47), 94(10), 93(25), 91(30), 81(55), 79(45), 77(30), 69(58), 67(86), 57(20), 55(45), 53(18), 43(68), 41(52).

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$ (166, 22)	Ber.	C 72,26	H 8,49 %
	Gef.	C 72,13	H 8,41 %

1.7. 3-Hydroxy-4,8-dimethyl-bicyclo[3.3.0]oct-3-en-2-on (47)

6,0 g (36,1 mmol) Epoxid 46 wurde mit 67 ml Eisessig und 0,55 ml konz. Schwefelsäure versetzt und 1 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Die Essigsäure wurde darauf am RV. abdestilliert, der Rückstand in 100 ml 10proz. KOH gegossen und mehrmals mit Aether extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit verd. Salzsäure auf pH 3 gebracht und wie üblich weiter verfahren. Nach dem Eindampfen wurde das Produkt 47 in Pentan/Aether 1 : 1 gelöst und über 20 g Kieselgel filtriert. Das Filtrat wurde eingedampft und das kristalline Produkt 47 sublimiert (90 - 100°/14 Torr). 5,6 g (93 %) DC.-reines 47. - Smp.: 95,1° subl. - $[\alpha]_D^{20} = +51,6^\circ$ (c = 0,973; CHCl₃). - UV.: 264 (3,93). - IR.: 3510, 3325 (OH), 1705, 1660, 1410, 1365. - ¹H-NMR. (100 MHz): 6,65 (br. s, OH); 3,22 - 2,97 (m, H-C(5)); 2,39 (t, J=6, H-C(1)); 2,82 - 1,23 (m, H₂-C(6), H₂-C(7), H-C(8)); 1,98 (s, CH₃-C(4)); 1,12 (d, J=7, CH₃-C(8)). - MS.: 166 (M⁺, 100), 151(19), 138(22), 137(10), 133(11), 125(15), 124(40), 123(37), 112(15), 111(16), 110(57), 109(34), 108(11), 105(21), 96(17), 95(50), 94(13), 93(14), 91(15), 83(16), 82(35), 81(87), 80(20), 79(25), 77(18), 69(15), 67(33), 65(14), 57(15), 55(37), 53(20), 51(12), 43(34), 41 (45).

C ₁₀ H ₁₄ O ₂ (166,22)	Ber.	C 72,26	H 8,49 %
	Gef.	C 71,98	H 8,31 %

1.8. 3-Acetoxy-4,8-dimethyl-bicyclo[3.3.0]oct-3-en-2-on (48)

5,6 g (33,7 mmol) Enolon 47, 6,7 ml abs. Triäthylamin, 6,7 ml Essigsäureanhydrid und 168 mg (1,38 mmol) N,N-Dimethylaminopyridin (DMAP) wurden zusammengegeben und über Nacht stehen gelassen. Nach beendeter Reaktion wurde das Triäthylamin am RV. abgezogen, der Rückstand mit verd. Salzsäure auf pH 3 gestellt und mehrmals mit Aether extrahiert. Danach wurde wie üblich weiter verfahren. Anschliessende Destillation (120 - 140°/4 Torr) des Rohproduktes lieferte 6,37 g (91 %) DC.-reines 48. - $[\alpha]_D^{20} = +59,7^\circ$ (c = 1,126; CHCl₃). - UV.: 247 (3,96). - IR.: 1770, 1715, 1662, 1372, 1195. - ¹H-NMR. (100 MHz): 3,32 - 3,03 (m, H-C(5)); 2,40 (t, J=6, H-C(1)); 2,32 - 1,24 (m, H₂-C(6), H₂-C(7), H-C(8)); 2,23 (s, OCOCH₃); 1,92 (s, CH₃-C(4)); 1,10 (d, J=7, CH₃-C(8)). - MS.: 208 (M⁺, 8), 167(11), 166(100), 151(10), 139(18), 124(26),

123(13), 110(25), 109(13), 105(12), 81(31), 43(43), 41(12).

$C_{12}H_{16}O_3$ (208, 26)	Ber.	C 69,20	H 7,74 %
	Gef.	C 69,48	H 8,03 %

1.9. 3-Acetoxy-2-hydroxy-4,8-dimethyl-bicyclo[3.3.0]octan (49a und 49b)

3,60 g (17,3 mmol) 48 wurden in 65 ml Aethanol gelöst, mit 283 mg Platin (IV)-oxid als Katalysator versetzt und 4 Std. bei 3,4 atü/RT. in einem Parr-Apparat hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration entfernt, das Filtrat eingedampft und der Rückstand destilliert (120 - 130°/2 Torr): 3,58 g (97,5 %) 49a und 49b. Nach DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) waren zwei Produkte erhalten worden, die sich aber durch präp. DC. schlecht trennen liessen.

Da auf der nächstfolgenden Stufe die beiden Produkte mit Leichtigkeit getrennt werden konnten, wurde hier auf eine Trennung verzichtet. 49a und 49b entstanden etwa im Verhältnis 9 : 1 (bestimmt an der folgenden Stufe Diole 50a und 50b).

Wurden 810 mg (3,89 mmol) 48 in 14 ml Aethanol gelöst, mit 63,7 mg Platin (IV)-oxid versetzt und 17 Std. bei 0,34 atü/RT. im Parr-Apparat hydriert, konnte nach Destillation 700 mg (85 %) O-Acetylderivat 49a und 49b isoliert werden, wobei das Verhältnis 49a/49b nun etwa 6 : 4 (NMR.) betrug. - $[\alpha]_D^{25} = -45,1^\circ$ ($c = 1,043$; $CHCl_3$). - IR.: 3600, 3490, 1728, 1460, 1378, 1260. - 1H -NMR. (100 MHz): 5,15 (dxd, $J=8/3, 5, 0, 4$ H, H-C(3) 49b); 4,71 (dxd, $J=11/8, 0, 6$ H, H-C(3) 49a); 4,30 - 4,06 (m, H-C(2), 49a und 49b); 3,20 (br. s, OH); 2,68 - 1,14 (m, H_2 -C(6), H_2 -C(7), H-C(8)); 2,12 (2s, $OCOCH_3$, 49a und 49b); 1,06 und 0,93 (2xd, je $J=6$, CH_3 -C(4), CH_3 -C(8)). - MS.: 212 (M^{+} , <1), 152 (28), 137(100), 123(22), 110(19), 109(25), 108(14), 97(15), 95(35), 94(19), 93(18), 82(19), 81(93), 79(15), 71(30), 70(15), 69(18), 67(34), 45(20).

$C_{12}H_{20}O_3$ (212, 28)	Ber.	C 67,89	H 9,49 %
	Gef.	C 68,14	H 9,56 %

1.10. 2,3-Dihydroxy-4,8-dimethyl-bicyclo[3.3.0]octan (50a und 50b)

5,7 g (26,9 mmol) O-Acetylderivate 49a und 49b wurden in 110 ml Aethanol gelöst, mit 43,8 ml 10proz. KOH versetzt und 30 Min. unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde am RV teilweise abgezogen, der Rückstand mit Wasser verdünnt und wie üblich weiter aufgearbeitet. Die erhaltenen Diöle 50a und 50b konnten leicht säulenchromatographisch getrennt werden (160 g Kieselgel, Aether). Es konnten 3,9 g Diol 50a und 0,39 g Diol 50b isoliert werden: total 4,29 g (94 %).

Diol 50a: Umkristallisation aus Wasser. - Smp. 51,7 - 52,0°. - $[\alpha]_D = -48,9^\circ$ (c = 1,133; Aethanol). - IR. (KBr): 3500, 3360, 1460, 1420, 1375, 1260.

$^1\text{H-NMR}$. (360 MHz): 4,15 (dxd, J=9/4,3, H-C(2)); 3,83 (t, J=4,3, H-C(3)); 2,94 (untet, J=9,3, H-C(5)); 2,19 - 2,01 (m, darin bei 2,09 Quintet, J=9,4, H-C(1), H-C(4)); 1,95 - 1,41 (m, $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H}_2\text{-C}(7)$, H-C(8)); 1,05 (d, J=8, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$); 1,03 (d, J=6,5, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$). Entkopplungen: 4,15 $\rightarrow$ 3,83 (d) und 2,19 - 2,01 (Vereinfachung); 3,83 $\rightarrow$ 4,15 (d) und 1,95 - 1,41 (Vereinfachung); 1,95 $\rightarrow$ 3,83 (d) und 2,49 (Vereinfachung) und 1,05 (s). - $^{13}\text{C-NMR}$. (CDCl_3): 78,5 (d), 74,9 (d) (C(2) und C(3)), 53,5 (d), 47,4 (d) (C(1) und C(5)), 37,0 (t) (C(6) oder C(7)), 36,4 (d), 36,3 (d) (C(4) und C(8)), 28,7 (t) (C(6) oder C(7)), 21,1 (qa) ($\text{CH}_3\text{-C}(8)$), 10,4 (qa) ($\text{CH}_3\text{-C}(4)$). - MS.: 170 (M^+ , 1), 152(9), 137(17), 123(19), 122(14), 121(10), 109(22), 108(16), 97(17), 96(10), 95(48), 94(31), 93(23), 91(17), 84(19), 83(12), 82(22), 81(100), 79(42), 77(17), 71(28), 70(14), 69(24), 67(54), 65(11), 57(14), 55(34), 51(22), 43(28), 41(54).

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (170,25)

Ber. C 70,54

H 10,65 %

Gef. C 70,72

H 10,75 %

Diol 50b: Umkristallisation aus Pentan/Aether. - Smp. 128,0 - 128,4°.

- $[\alpha]_D = -54,0^\circ$ (c = 1,210; Aethanol). - IR. (KBr): 3360, 3295, 1460 Sch, 1438, 1381. - $^1\text{H-NMR}$. (360 MHz): 3,88 (t, J=8,6, H-C(2)); 3,61 (br. s, -OH); 3,41 (t, J=10,4, H-C(3)); 2,42 (Quintet, J=9, H-C(5)); 2,01 - 1,83 (m, darin bei 1,96 Quintet, J=9, H-C(1), H-C(8)); 1,78 - 1,58 (m, H-C(4), $\text{H}_2\text{-C}(7)$); 1,30 - 1,15 (m, $\text{H}_2\text{-C}(6)$); 1,04 (d, J=6,4, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$); 0,97 (d, J=6,8, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$). Entkopplungen: 3,88 $\rightarrow$ 3,41 (d) und 1,96 (t); 3,41 $\rightarrow$ 3,88 (d) und 1,78 - 1,58 (Vereinfachung); 2,42 $\rightarrow$ 2,01 - 1,83 (Vereinfachung) und 1,78 - 1,58 (Vereinfachung) und 1,30 - 1,15 (Vereinfachung); 0,97 $\rightarrow$ 1,78 - 1,58 (Vereinfachung) und 1,30 - 1,15 (Vereinfachung); 1,04 $\rightarrow$ 2,01 - 1,83 (Ver-

einfachung) und 1,78 - 1,58 (Vereinfachung) und 1,30 - 1,15 (Vereinfachung).
 - MS.: 170 (M^{+} , 10), 152(12), 137(19), 123(24), 122(17), 121(11), 109(17),
 108(13), 97(21), 96(10), 95(42), 94(32), 93(15), 84(21), 83(10), 82(20), 81(100),
 79(19), 71(30), 70(11), 69(17), 68(10), 67(27), 55(20), 43(13), 41(20).

$C_{10}H_{18}O_2$ (170,25)	Ber.	C 70,54	H 10,65 %
	Gef.	C 70,30	H 10,72 %

1.11. Spaltung der Diole 50a und 50b

Für beide Diole gilt dieselbe Vorschrift.

187 mg (1,1 mmol) Diol 50a wurden in 2 ml Aethanol und 2 ml Wasser gelöst und 389 mg (1,82 mmol) Natrium-metaperjodat unter Rühren dazugegeben. Nach 5 Min. Reaktionszeit wurde 5proz. wässrige K_2CO_3 zugegeben und wie üblich aufgearbeitet. Nach DC. waren zwei Produkte entstanden, die durch präp. DC. (Kieselgel, Aether) getrennt werden konnten.

Produkt G (mit kleinerem R_f -Wert) wurde bei 80 - 90°/0,5 Torr destilliert und lieferte Iridodial (1a) (61 mg, 33 %). - IR.: 3590, 3400, 2730, 1723, 1610, 1460, 1380. - 1H -NMR. (60 MHz): 9,78 und 9,68 (2xd, $J=3$ bzw. 2, 2x CHO); 2,88 - 1,20 (m, H-C(4), H-C(5), H_2 -C(6), H_2 -C(7), H-C(8), H-C(9)); 1,20 und 1,10 (2xd, $J=6$ bzw. 7, CH_3 -C(4), CH_3 -C(8)). - MS.: 169 ($[M+1]^+$, 7), 168 (M^{+} , 5), 150(15), 139(12), 135(25), 122(15), 121(19), 111(25), 109(20), 108(20), 107(17), 97(25), 95(25), 93(30), 84(32), 83(22), 82(33), 81(77), 79(23), 71(47), 69(28), 67(52), 58(100), 55(41), 53(15), 43(33) 41(42).

Produkt F wurde ebenfalls bei 80 - 90°/0,5 Torr destilliert (78 mg, 42 %). - IR.: 3590, 3420, 2730, 1725, 1460, 1380. - 1H -NMR. (60 MHz): 9,72 und 9,62 (2xd, $J=3$ bzw. 2, CHO); 4,75 (d, $J=8,5$); 4,46 (d, $J=4$); 4,18 - 3,32 (m); 2,60 - 0,90 (m). - MS.: 168(15), 150(12), 139(12), 132(50), 126(10), 124(24), 123(20), 121(19), 111(27), 109(24), 108(20), 107(31), 99(30), 97(30), 95(34), 93(37), 91(15), 86(97), 84(26), 83(21), 82(30), 81(96), 79(30), 77(13), 75(20), 71(63), 69(32), 67(60), 58(100), 57(26), 55(50), 53(17), 45(23), 43(40), 41(52).

1.12. Acetylierung von Produkt F

40 mg Produkt F wurden mit je 1 ml Triäthylamin und Essigsäureanhydrid und einer Spatelspitze DMAP versetzt und über Nacht stehen gelassen. Das Triäthylamin und Essigsäureanhydrid wurden abgedampft und der Rückstand der präp. DC. (Kieselgel, Aether) unterworfen. Die am schnellsten wandernde Zone wurde abgekratzt, mit Aether eluiert, eingedampft und destilliert (125 - 135°/1 Torr). Da nach DC. das Produkt immer noch nicht einheitlich war, wurde nochmals durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 9:1) und Destillation gereinigt. Ausbeute: 22,5 mg (45 %). - IR.: 1740, 1460, 1380, 1240, 1130. - ¹H-NMR. (90 MHz): 5,68 (d, J=9); 4,50 (d, J=1,5); 3,90 - 3,30 (m); 2,67 - 1,25 (m, -CH₂-); 1,97 (s, OCOCH₃); 1,20 (t, J=7,5, CH₃); 0,93 (d, J=6, CH₃); 0,81 (d, J=7, CH₃). Entkopplungen: 5,68 → 2,67 - 1,83 (Vereinfachung); 4,50 → 1,83 - 1,25 (Vereinfachung); 3,70 → 1,20 (Vereinfachung); 1,67 → 4,50 (s); 1,07 → 3,90 - 3,30 (Vereinfachung). - MS.: 168(3), 151(15), 123(12), 111(10), 100(50), 97(15), 95(14), 93(10), 86(23), 85(17), 84(10), 83(18), 82(18), 81(22), 71(29), 70(11), 69(23), 67(16), 58(19), 57(40), 55(26), 43(100), 41(26).

2. SYNTHESE VON IRIDODIAL (1) NACH CLARK ET AL.

vgl. Schema 20

2.1. 2,6-Dimethyl-8,8-äthylendioxy-oct-2-en (51)

117 g (0,764 mol) D-(+)-Citronellal (7) ($[\alpha]_D^{20} = +4,9^{\circ}$) wurden in 330 ml abs. Benzol gelöst, 55 ml Äthylenglykol und 55 mg p-Toluolsulfonsäure dazugegeben und 13 Std. am Wasserabscheider unter Rückfluss gekocht. Es hatten sich ca. 12 ml Wasser abgeschieden. Die Reaktionslösung wurde 2mal mit wässriger NaHCO₃ und einmal mit Wasser gewaschen und wie üblich weiter verfahren. Das Rohprodukt wurde über eine Vigreux-Kolonne destilliert (118 - 120°/18 Torr). Ausbeute: 68,87 g (45 %) 51. - IR.: 1460, 1440, 1415, 1381, 1235, 1130, 1040, 950. - ¹H-NMR. (60 MHz): 5,11 (t mit Feinstruktur,

$J=7$, H-C(3)); 4,93 (t, $J=5$, H-C(8)); 4,06 - 3,72 (m, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$); 2,33 - 1,15 (m, $\text{H}_2-\text{C}(4)$, $\text{H}_2-\text{C}(5)$, $\text{H}_2-\text{C}(6)$, $\text{H}_2-\text{C}(7)$); 1,72 und 1,64 (2xs, $2\times\text{CH}_3-\text{C}(2)$, $\text{H}_3-\text{C}(1)$); 0,97 (d, $J=6$, $\text{CH}_3-\text{C}(6)$). - MS.: 198 (M^{+} , 2), 183(3), 136(9), 121(40), 113(48), 95(17), 73(100), 71(11), 69(18), 45(17), 41(20).

2.2. 2,6-Dimethyl-8,8-äthylendioxy-oct-2-en-1-al (52)

68,8 g (0,347 mol) 51 wurden in 115 ml Aethanol gelöst und auf dem Wasserbad auf 50° erhitzt. Aus 39 g (0,351 mol) Selendioxyd und 230 ml Aethanol wurde eine Lösung bereitet, die während 2 Std. zu der Lösung von 51 zugetropft wurde. Es wurde langsam auf Rückflusstemperatur gebracht und 18,5 Std. reagieren gelassen. Danach wurde das Reaktionsgemisch über Celite filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde in Aether aufgenommen und 3mal mit wässriger NaHCO_3 gewaschen und wie üblich verarbeitet. Zur weiteren Reinigung wurde nun der Rückstand 48 Std. mit einer Lösung von 115 g Natriumsulfit, 66 g NaHCO_3 in 663 ml Wasser behandelt. Ungelöstes Öl wurde durch mehrmaliges Extrahieren mit Aether entfernt. Darauf wurde die wässrige Phase mit NaOH basisch gestellt und wie üblich weiter verfahren. Es konnten 16,53 g (22,5 %) DC.-reines 52 isoliert werden. - IR.: 2730, 1685, 1650, 1460, 1380. - ^1H -NMR. (60 MHz): 9,39 (s, CHO); 6,47 (t mit Feinstruktur, $J=7$, H-C(3)); 4,90 (t, $J=4$, H-C(8)); 4,06 - 3,72 (m, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$); 2,39 (qa, $J=7$, $\text{H}_2-\text{C}(7)$); 1,92 - 1,13 (m, $\text{H}_2-\text{C}(4)$, $\text{H}_2-\text{C}(5)$, H-C(6)); 1,76 (s, $\text{CH}_3-\text{C}(2)$); 1,02 (d, $J=6$, $\text{CH}_3-\text{C}(6)$).

2.3. Iridodial (1b)

16,5 g (0,078 mol) 52 und 248 ml 50proz. Ameisensäure wurden zusammen während 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionsmischung in wässrige NH_4Cl -Lösung gegossen und mehrmals mit Aether extrahiert. Nachdem die Aetherphasen mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen worden waren, wurde wie üblich weiter aufgearbeitet. Destillation ($80 - 90^\circ/0,5$ Torr) erbrachte 7,4 g (56,5 %) Iridodial (1b).

Es handelt sich um ein Gemisch mehrerer Isomeren, die nach GC. sich wie folgt zusammensetzen (Reihenfolge mit steigender Retentionszeit): 9,3 : 35,0 : 38,4 : 17,3 . - IR.: 2730, 1721, 1460, 1380. - $^1\text{H-NMR}$. (60 MHz): 9,60 (d, $J=2$, 2 CHO); 2,87 - 1,33 (m, H-C(4), H-C(5), $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H}_2\text{-C}(7)$, H-C(8), H-C(9)); 1,05 (br. d, $J=6$, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (168, 23)	Ber.	C 71,39	H 9,58 %
	Gef.	C 70,99	H 9,69 %

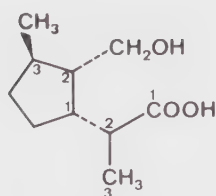
3. ABBAU VON IRIDODIAL (1)

vgl. Schemata 21 und 23

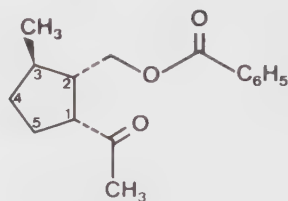
3.1. 2-(2-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclopentyl)-propionsäure (53)

3 g (17,8 mmol) Iridodial (1b) (Isomerengemisch 9,3 : 35,0 : 38,4 : 17,3, GC.-Analyse) wurden in 50 ml Benzol gelöst, mit 25 ml 2 N NaOH und 5,908 g (17,8 mmol) Tetrabutylammonium-hydrogensulfat versetzt und 2 Std. bei RT. gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit Wasser verdünnt und mehrmals mit Aether extrahiert. Die wässrige Phase wurde vorsichtig mit verd. Salzsäure angesäuert, worauf sich die Hydroxysäuren ölig niederschlugen. Sie wurden mit Aether extrahiert und die Aetherphasen wie üblich weiterbehandelt. Das Hydroxysäurengemisch wurde destilliert (100 - 120°/0,2 Torr), dann mit soviel 2 N NaOH versetzt, bis sich gerade alles löste. Nun wurde wieder vorsichtig mit verd. Salzsäure auf pH 5 gebracht, wobei ein Niederschlag von farblosen Nadeln der gewünschten Hydroxysäure 53 entstand. Dieser konnte abgenuzt werden. Nach Waschen mit eiskaltem Wasser wurde am HV. getrocknet und danach aus Hexan umkristallisiert: 460 mg (17,3 %). - Smp. 108,9°. - $[\alpha]_D^{20} = +13,7^\circ$ ($c = 1,022$; Aethanol). - IR. (KBr): 3220, 2640, 2550 Sch, 1662, 1290, 1275, 1047. - $^1\text{H-NMR}$. (90 MHz, CD_3OD): 4,38 (dxd, $J=10,5/6$, 1H, $-\text{CH}_2\text{OH}$); 4,07 (t, $J=10,5$, 1H, $-\text{CH}_2\text{OH}$); 2,62 - 2,36 (m, H-C(2)); 2,17 - 1,22 (m, H-C(1), H-C(2), H-C(3), $\text{H}_2\text{-C}(4)$, $\text{H}_2\text{-C}(5)$ des Cyclopentylrestes); 1,05 (d, $J=7$, $\text{CH}_3\text{-C}(2)$); 0,97 (d, $J=6$, $\text{CH}_3\text{-C}(3)$). Entkopplung: 2,45 $\rightarrow$ 1,05 (s). - MS.: 139 ($[\text{M} - \text{COOH}]^+$, 9), 109(40), 96(15), 95(83), 82(35),

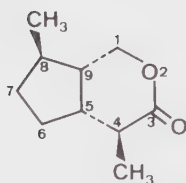
SCHEMA 23. Numerierung der Abbauprodukte von Iridodial (1) nach IUPAC



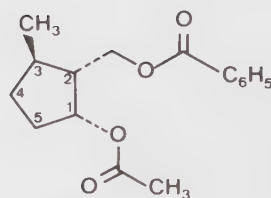
53



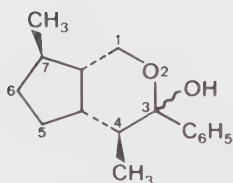
57



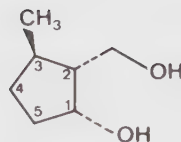
3



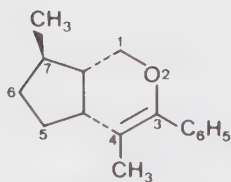
58



55



59



56

81(85), 79(15), 69(34), 68(55), 67(100), 55(34), 43(39), 41(24).

$C_{10}H_{18}O_3$ (186, 25)

Ber.

C 64, 48

H 9, 74 %

Gef.

C 64, 51

H 9, 90 %

3.2. Isoiridomyrmecin (3)

460 mg (2,473 mmol) Hydroxysäure 53 wurden in ein Kugelrohr überführt und bei 120°/0,2 Torr destilliert, wobei sich Lacton 3 bildete. Ausbeute: 383 mg (92 %). Durch Umkristallisation aus Wasser konnte ein GC.-reines Produkt 3 vom Smp. 56,3 - 56,8° erhalten werden. - $[\alpha]_D = +49,8^\circ$ ($c = 1,933$; CCl_4). - IR.: 1740, 1245, 1170, 1132, 1110, 1055. - $^1\text{H-NMR}$. (360 MHz): 4,37 (dxd, $J=11/6,5$, $1\text{H-C}(1)$); 3,99 (t, $J=11$, $1\text{H-C}(1)$); 2,35 (dxd, $\text{H-C}(4)$); 2,21 - 2,12, 2,12 - 2,02, 1,97 - 1,89 und 1,42 - 1,28 (m, $\text{H-C}(5)$, $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H}_2\text{-C}(7)$, $\text{H-C}(9)$); 1,77 - 1,63 (m, $\text{H-C}(8)$); 1,23 (d, $J=6,5$, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$); 1,09 (d, $J=6,8$, $\text{CH}_3\text{-C}(8)$). Entkopplungen: 1,23 $\rightarrow$ 2,35 (d, $J=10$) und 1,42 - 1,28 (Vereinfachung) und 1,77 - 1,63 (Vereinfachung); 1,09 $\rightarrow$ 1,42 - 1,28 (Vereinfachung) und 1,77 - 1,63 (Vereinfachung). - MS.: 168 (M^+ , <1), 109(45), 95(98), 82(44), 81(90), 69(43), 68(65), 67(100), 55(42), 43(56), 41(25).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (168,23)	Ber.	C 71,39	H 9,58 %
	Gef.	C 71,54	H 9,53 %

3.3. 3-Hydroxy-3-phenyl-4,7-dimethyl-octahydro-cyclopenta[c] pyran (55)

53 mg (0,315 mmol) Isoiridomyrmecin (3) wurden unter Stickstoff in 1 ml abs. Aether gelöst und 173 μl (0,346 mmol) einer Lösung von Phenyllithium (ca. 2 m in Benzol/Aether) zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionsmischung in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt (54,73 mg, 70,6 %) enthielt nach GC. noch 6,6 % der Verbindung 56. Umkristallisation aus Pentan lieferte 55 vom Smp. 113,0°. - $[\alpha]_D = -80,5^\circ$ ($c = 1,016$; CHCl_3), nach 30 Min. -90,6°, nach 180 Min. -124°. - UV.: 277 (2,48), 243 (3,58). - IR.: 3580, 3400, 1680, 1600, 1095, 1060, 1020, 982. - $^1\text{H-NMR}$. (90 MHz): 8,07 - 7,92 (m, 0,5H, arom. H der offenen Form 55a); 7,60 - 7,20 (m, 4,5H, arom. H 55); 4,27 (dxd, $J=12/4$, $1\text{H-C}(1)$); 3,95 - 3,44 (m, darin bei 3,74 dxd, $J=12/2$, $1\text{H-C}(1)$ 55 und $\text{H-C}(1)$ 55a); 3,34 (br. s, OH); 2,22 (d, $J=2$, OH); 2,20 - 1,20 (m, $\text{H-C}(4)$, $\text{H-C}(4a)$, $\text{H}_2\text{-C}(5)$, $\text{H}_2\text{-C}(6)$, $\text{H-C}(7)$, $\text{H-C}(7a)$); 1,15 und 1,04 (d, $J=7,5$ bzw. 6, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$ und $\text{CH}_3\text{-C}(7)$ 55a); 1,04 und 0,70 (2xd, $J=7$, $\text{CH}_3\text{-C}(4)$ und $\text{CH}_3\text{-C}(7)$ 55). - MS.: 246 (M^+ , 12), 228(10), 213(13), 171(10), 134(20), 124(30), 123(25), 109(20), 105(100), 95(45),

82(31), 81(35), 77(38), 69(15), 68(41), 67(25), 45(15), 41(10).

$C_{16}H_{22}O_2$ (246, 35)	Ber.	C 78,00	H 9,00 %
	Gef.	C 78,27	H 9,14 %

3.4. 3-Phenyl-4,7-dimethyl-octahydro-cyclopenta[c] pyran (56)

128 mg (0,520 mmol) 55 wurden in 7 ml abs. Benzol gelöst, 660 mg $MgSO_4$ und 2 mg p-Toluolsulfonsäure dazugegeben und 30 Min. unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde mit verd. $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde bei $90^\circ/0,01$ Torr destilliert und lieferte 109 mg (92 %) GC.-reines 56. - $[\alpha]_D = -104^\circ$ ($c = 1,043$; CCl_4). - UV.: 264(3,80). - IR.: 1660, 1602, 1490, 1455, 1445, 1130, 1070, 1045, 1025. - 1H -NMR. (90 MHz): 7,47 - 7,20 (m, 5 arom.H); 4,00 (dxd, $J=10,5/4,5$, 1 H-C(1)); 3,67 (dxd, $J=10,5/7,5$, 1 H-C(1)); 2,50 (qa, $J=7,5$, H-C(4a)); 2,20 - 1,10 (m, H_2 -C(5), H_2 -C(6), H-C(7), H-C(7a)); 1,70 (s, CH_3 -C(4)); 1,08 (d, $J=6$, CH_3 -C(7)). - MS.: 228(M^{+} , 57), 213(89), 171(75), 157(11), 145(11), 134(11), 129(17), 128(15), 115(11), 105(100), 95(16), 94(17), 91(19), 81(13), 79(13), 77(53), 67(13), 54(11), 50(13), 42(24), 41(23).

$C_{16}H_{20}O$ (228, 33)	Ber.	C 84,16	H 8,82 %
	Gef.	C 84,31	H 9,10 %

3.5. 1-Acetyl-2-benzoyloxymethyl-3-methyl-cyclopentan (57)

188 mg K_2CO_3 , 720 mg (3,37 mmol) Natrium-metaperjodat und 22 mg (0,139 mmol) Kaliumpermanganat wurden in 90 ml Wasser und 170 ml tert.-Butylalkohol gelöst und eine Lösung von 56 in 4 ml tert.-Butylalkohol dazugegeben. Noch 3 Std. wurde bei RT. gerührt, danach unter Neutralhaltung der Reaktionsmischung mit 5proz. K_2CO_3 überschüssiges Oxydationsmittel mit Natriumhydrogensulfit zerstört, worauf die wässrige Phase wie üblich aufgearbeitet wurde. Das Rohprodukt 57 wurde durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) und durch Destillation ($95^\circ/0,01$ Torr) gereinigt und lieferte 49 mg (43 %) GC.-reines 57. - $[\alpha]_D = -77,8^\circ$ ($c = 1,260$; $CHCl_3$). - UV.: 280(2,82), 272(2,94), 229(4,09). - IR.: 1725 Sch, 1710, 1605, 1590, 1275, 1110.

$^1\text{H-NMR}$. (90 MHz): 8,08 - 7,88 (m, 2 arom. H); 7,68 - 7,23 (m, 3 arom. H); 4,50 - 4,05 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OCO}$); 3,20 (qa, $J=7$, H-C(1)); 2,28 - 1,58 (m, H-C(2), H-C(3), $\text{H}_2-\text{C}(4)$, $\text{H}_2-\text{C}(5)$); 2,13 (s, CH_3CO); 1,04 (d, $J=6$, $\text{CH}_3-\text{C}(3)$). Entkopplungen: 1,85 $\rightarrow$ 3,20 (d, $J=7$); 3,20 $\rightarrow$ 2,28 - 1,58 (Vereinfachung); 2,09 $\rightarrow$ 4,50 - 4,05 (Vereinfachung). - MS.: 148 ($[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_5\text{CO} - \text{CH}_3\text{CO}]^+$, 78), 123(25), 105(76), 96(80), 95(80), 93(20), 91(25), 83(99), 81(100), 79(40), 77(52), 67(53), 55(45), 46(84), 45(89), 43(38), 41(37).

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_3$ (260, 33)	Ber.	C 73,81	H 7,74 %
	Gef.	C 73,52	H 7,89 %

3.6. 1-Acetoxy-2-benzoyloxymethyl-3-methyl-cyclopentan (58)

59 mg (0,227 mmol) 57 wurden in 2 ml Chloroform gelöst und mit 52 mg (0,272 mmol) ca. 90proz. m-Chlorperbenzoesäure versetzt. Während 7 Tagen wurde unter Lichtausschluss bei RT. gerührt. Danach wurden nochmals 47 mg (0,245 mmol) m-Chlorperbenzoesäure zugegeben und weitere 7 Tage bei RT. gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Aether verdünnt, mit 5proz. K_2CO_3 und Wasser gewaschen und wie üblich weiter verarbeitet. Die Reinigung erfolgte durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) und Destillation ($120^\circ/0,01$ Torr). Ausbeute: 50,5 mg (81 %) 58. - $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -95,1^\circ$ ($c = 1,072$; CHCl_3). - UV.: 280(2,85), 272(2,95), 229(4,09). - IR.: 1730 Sch, 1720, 1605, 1585, 1280, 1250, 1115. - $^1\text{H-NMR}$. (90 MHz): 8,10 - 7,93 (m, 2 arom. H); 7,66 - 7,20 (m, 3 arom. H); 5,47 - 5,25 (m, H-C(1)); 4,50 - 4,15 (m, $-\text{CH}_2-\text{OCO}$); 2,28 - 1,15 (m, H-C(2), H-C(3), $\text{H}_2-\text{C}(4)$, $\text{H}_2-\text{C}(5)$); 1,93 (s, CH_3CO); 1,08 (d, $J=6$, $\text{CH}_3-\text{C}(3)$). - MS.: 276 (M^+ , <1), 216(7), 154(15), 123(15), 112(49), 105(93), 94(100), 79(30), 77(83), 68(36), 55(32), 51(33), 43(36), 41(26).

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (276, 33)	Ber.	C 69,54	H 7,29 %
	Gef.	C 69,29	H 7,42 %

3.7. 2-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclopentanol (59)

40 mg (0,145 mmol) 58 wurden in 1 ml 5proz. methanolischer KOH gelöst und über Nacht bei RT. gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 10 ml Wasser

verdünnt und die wässrige Phase wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand wurde durch präp. DC. (Kieselgel, Aether) und Destillation ($65^{\circ}/0,01$ Torr) gereinigt: 10,3 mg (55 %) 59. - IR.: 3620, 3500, 2960, 2868. - ^1H -NMR. (90 MHz): 4,53 - 4,33 (m, H-C(1)); 4,01 - 3,60 (m, $-\text{CH}_2\text{OH}$); 2,33 (br. s, OH); 2,20 - 1,05 (m, H-C(2), H-C(3), $\text{H}_2\text{-C}(4)$, $\text{H}_2\text{-C}(5)$); 0,97 (d, J=6, $\text{CH}_3\text{-C}(3)$). - MS.: 112 ($[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^{+}$, 28), 97(28), 94(48), 84(23), 83(40), 81(18), 79(36), 70(35), 69(35), 68(83), 67(48), 57(43), 56(44), 55(100), 43(46), 41(80).

Die basische Wasserphase wurde bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 0,5 ml Wasser aufgenommen und mit 1 N Salzsäure bis zum Umschlagspunkt von Phenolphthalein titriert. Es wurden 5 ml abs. Dimethylformamid (DMF) und 112 mg p-Bromphenacylbromid dazugegeben und 3,5 Std. bei RT. stehen gelassen. Das Lösungsmittel wurde am HV. abgezogen und der Rückstand mehrmals mit Aether ausgezogen. Die Aetherauszüge wurden eingedampft und durch präp. DC. (Kieselgel, Benzol) konnten der Essigsäure-p-bromphenacylester (22,2 mg, 60 %, Smp. $84,1^{\circ}$ (Aether/Pentan)) und der Benzoessäure-p-bromphenacylester (29 mg, 63 %, Smp. $115,0^{\circ}$ (Aether/Pentan)) isoliert werden.

4. EINBAUVERSUCH MIT 2- ^{14}C -MEVALONAT IN TAPINOMA NIGERRIMUM NYL.

1 mCi (19 mg, 52,2 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$) Mevalonsäurelacton war in Methanol gelöst worden und wurde mit 0,1 N NaOH bis zum Umschlagspunkt von Phenolphthalein versetzt. Es wurde 2 Std. stehen gelassen, dann bis zur Trockne eingedampft und in 0,4 ml Wasser aufgenommen. Diese Lösung wurde zusammen mit toten verriebenen Grillen an ein Ameisenvolk von *Tapinoma nigerrimum* Nyl., das in der Umgebung von Nizza (Frankreich) gesammelt worden war, verfüttert. Täglich wurden über einen Zeitraum von 9 Tagen kleine Portionen der Lösung von 2- ^{14}C -Mevalonsäure an die Ameisen gegeben. Nach 9 Tagen wurde das Nest zerstört, die Ameisen von der Erde abgesaugt und durch Einfrieren getötet.

Die Ameisen wurden gemörsert, 3mal mit ca. 100 ml Pentan bei RT. extrahiert und die vereinigten Pentanextrakte auf etwa 100 ml eingeeengt und ausgezählt (Totalaktivität: $2,05 \cdot 10^7$ dpm). Danach wurde der Pentanextrakt ganz eingedampft. Im GC. des Pentanextraktes war ersichtlich, dass zwei Isomere (ca. 1 : 1) von Iridodial (1) vorkamen. Ein Radio-DC. zeigte, dass ein grosser Teil der Radioaktivität im Iridodial-Fleck vorhanden war. Es wurden 1,73 g inaktives Iridodial (1a), das nach 1. hergestellt und destilliert worden war, zugegeben. Dieses wurde sogleich wie unter 3.1. und 3.2. beschrieben ins Isoiridomyrmecin (3) überführt, das durch Sublimation ($100^\circ/0,2$ Torr) bis zur Radiokonstanz gereinigt wurde. Spezifische Aktivität: $26,1 \pm 4$ dpm/mg.
 $[\alpha]_D = +61,1^\circ (c = 1,147; \text{CCl}_4; +59^\circ [34, 35])$.

C. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. W. K. Cavill, D. L. Ford & H. D. Locksley, Austral. J. Chemistry 9, 288 (1956).
- [2] R. Trave & M. Pavan, Chimia e Ind. 38, 1015 (1956).
- [3] G. W. K. Cavill & D. L. Ford, Austral. J. Chemistry 13, 296 (1960).
- [4] G. W. K. Cavill & H. Hinterberger, Intern. Kongr. Entomol. Verhandl. Wien, 1960, 53.
- [5] S. A. Abou-Donia, L. J. Fish & G. Pattenden, Tetrahedron Letters 1971, 4037.
- [6] G. Vidari, M. DeBernardi, M. Pavan & L. Ragozzino, Tetrahedron Letters 1973, 4065.
- [7] G. M. Happ & J. Meinwald, J. Amer. chem. Soc. 87, 2507 (1965).
- [8] J. Meinwald, G. M. Happ, J. Labows & T. Eisner, Science 151, 79 (1965).
- [9] J. Meinwald, M. S. Chadha, J. J. Hurst & T. Eisner, Tetrahedron Letters 1962, 29.
- [10] G. W. K. Cavill & F. B. Whitfield, Austral. J. Chemistry 17, 1260 (1964).
- [11] S. M. McElvain & E. J. Eisenbraun, J. Amer. chem. Soc. 77, 1599 (1955).
- [12] G. Büchi & R. E. Manning, Tetrahedron 18, 1049 (1962).
- [13] E. J. Eisenbraun, A. Bright & H. H. Appel, Chemistry & Ind. 1962, 1242.
- [14] M. L. Scarpati & M. Guiss, Tetrahedron 23, 4709 (1967).
- [15] O. Sticher & U. Junod-Busch, Pharm. Acta. Helv. 50, 127 (1975).
- [16] W. D. Loomis in J. B. Pridham (ed.) "Terpenoids in Plants", Academic Press, New York, 1967, S. 59.
- [17] J. W. Cornforth, Tetrahedron 30, 1515 (1974).
- [18] D. H. Smith & R. E. Carhart, Tetrahedron 32, 2513 (1976).
- [19] H. Auda, H. R. Juneja, E. J. Eisenbraun, G. R. Waller, W. R. Kays & H. H. Appel, J. Amer. chem. Soc. 89, 2476 (1967).
- [20] T. Eisner, Science 146, 1318 (1964).
- [21] F. E. Regnier, G. R. Waller, E. J. Eisenbraun & H. Auda, Phytochemistry 7, 221 (1968).
- [22] R. Guarnaccia, L. Botta & J. Coscia, J. Amer. chem. Soc. 91, 204 (1969).
- [23] A. G. Horodysky, G. R. Waller & E. J. Eisenbraun, J. biol. Chemistry 244, 3110 (1969).
- [24] H. Inouye, S. Ueda & S. Uesato, Phytochemistry 16, 1669 (1977).
- [25] D. A. Yeowell & H. Schmid, Experientia 20, 250 (1964).
- [26] H. Goeggel & D. Arigoni, Chem. Commun. 1965, 538.

- [27] H. Inouye, S. Ueda & S. Uesato, Tetrahedron Letters 1977, 713.
- [28] S. A. Achmad & G. W. K. Cavill, Austral. J. Chemistry 18, 1989 (1965).
- [29] W. C. Baird Jr., J. H. Surridge & M. Buza, J. org. Chemistry 36, 3324 (1971).
- [30] J. Wolinsky & D. Chan, J. org. Chemistry 30, 41 (1965).
- [31] W. Steglich & G. Höfle, Angew. Chemie 81, 1001 (1969).
- [32] K. J. Clark, G. I. Fray, R. H. Jaeger & R. Robinson, Tetrahedron 6, 217 (1959).
- [33] J. Freedmann, Tetrahedron Letters 1975, 3251.
- [34] G. W. K. Cavill & H. D. Locksley, Austral. J. Chemistry 10, 352 (1957).
- [35] J. Wolinsky, T. Gibson, D. Chan & H. Wolf, Tetrahedron 21, 1247 (1965).
- [36] S. M. McElvain & E. J. Eisenbraun, J. org. Chemistry 22, 976 (1957).
- [37] J. F. McConnell, A. McL. Mathieson & B. P. Schoenborn, Tetrahedron Letters 1962, 445.
- [38] P. De Clercq, M. Samson, D. Tavernier, D. Van Haver & M. Vandewalle, J. org. Chemistry 42, 3140 (1977).
- [39] R. B. Turner, J. Amer. chem. Soc. 72, 878 (1950).
- [40] R. von Ammon & R. D. Fischer, Angew. Chemie 84, 737 (1972).
- [41] K. Grob, Helv. 48, 1362 (1965); 51, 718 (1968).
- [42] Th. J. DeBoer & H. J. Backer, Org. Synth. 36, 16 (1956).

ZWEITER TEIL

Beiträge zur Biosynthese des Coccinellins

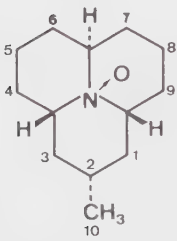
A. THEORETISCHER TEIL

1. EINLEITUNG

Das Abwehrverhalten der in Mitteleuropa weitverbreiteten Marienkäfer (z.B. *Coccinella septempunctata* L., Coccinellidae, Coleoptera) ist dadurch gekennzeichnet, dass die Insekten an den Coxen Hämolymphe ausscheiden (sog. Reflexbluten).

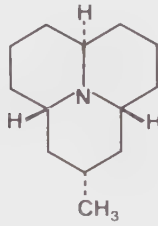
Nachdem lange vermutet wurde [1], dass die Ursache der abwehrenden Wirkung einer bestimmten Substanz zuzuschreiben sei, gelang es Tursch et al. [2] mit Hilfe eines biologischen Tests, der die "feeding deterrent" gegen Ameisen ausnützt, aus *Coccinella septempunctata* L. zwei Alkaloide, Coccinellin (1) und Precoccinellin (2) zu isolieren, die die ersten Vertreter der bis anhin unbekannten Verbindungen mit Perhydro-9b-azaphenalen-Struktur sind [3, 4, 5]. Für dieses Ringgerüst sind drei Isomere denkbar, s. Schema 1: 1 und 2 zeigen cis-trans-cis-Verknüpfung, wohingegen Convergin (3) und Hippodamin (4), die aus *Hippodamia convergens* isoliert wurden [6], cis-cis-trans-Isomere mit der angegebenen absoluten Konfiguration darstellen; Myrrhin (5) isoliert aus *Myrrha octodecimguttata* L. [7], gehört zu den Perhydro-9b-azaphenalen-Strukturen mit trans-trans-trans-Verknüpfung. Aus *Propylea quatordecimpunctata* L. wurde das 1,9a-Dehydroprecoccinellin, das sogenannte Propylein (6) isoliert [8] und aus den in West-Kanada vorkommenden Marienkäfer *Coccinella transversoguttata* Faldermann und *Hippodamia caseyi* Johnson die Alkaloide Hippocasin (7) und Hippocasin-N-oxid (8) [9] gewonnen. Die Strukturaufklärung dieser Alkaloide erfolgte zunächst durch Röntgenkristallstrukturbestimmung [4, 6, 9] und wurde später durch Totalsynthesen von Coccinellin (1), Precoccinellin (2), Myrrhin (5), Hippodamin (4) und Convergin (3) bestätigt [10, 11, 12].

SCHEMA 1. Alkaloide aus Käfern der Familie Coccinellidae



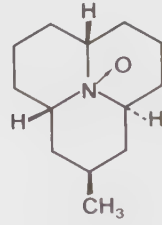
1

Coccinellin



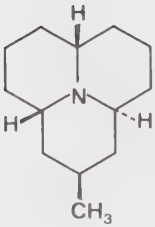
2

Precoccinellin



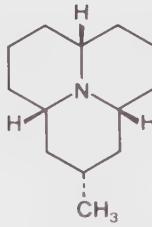
3

Convergin



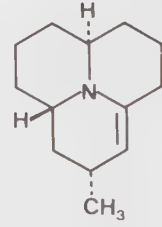
4

Hippodamin



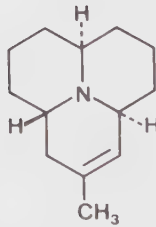
5

Myrrhin



6

Propylein

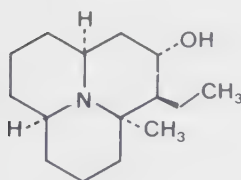


7: Hippocasin

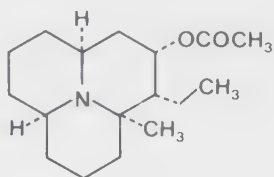
8: N-Oxid von 7

Strukturverwandte Alkaloide wie Poranthericin (9) und Porantherilin (10), vgl. Schema 2, wurden etwa gleichzeitig aus der Pflanze *Poranthera corymbosa* Brogn. (Euphorbiaceae) gewonnen. Die Konstitution dieser Basen wurde durch Röntgenkristallstrukturbestimmung [13, 14, 15] aufgeklärt. Ferner haben Corey & Balanson [16] die Synthese des Grundkörpers Porantherin (11) durchgeführt.

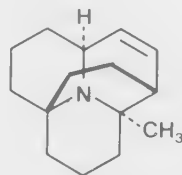
SCHEMA 2. Alkaloide aus der Pflanze *Poranthera corymbosa* Brogn.



9



10



11

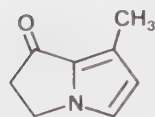
Im Vergleich zur ausserordentlichen strukturellen Vielfalt und Verbreitung der Alkaloide in Pflanzen ist die heute bekannte Anzahl von Insektenalkaloiden¹⁾ äusserst spärlich, anderseits haben gezielte Untersuchungen - weit erfolgreicher als bei Pflanzen - die ökologische Bedeutung der Alkaloide für die jeweilige Insektenspezies verständlich machen können. Im folgenden werden einige ausgewählte Beispiele angegeben. Dabei ist zu beachten, dass die Alkaloide ganz verschiedene Aufgaben erfüllen.

Aus den Haarpinseln der männlichen Schmetterlinge *Lycorea ceres ceres* Cramer und *Danaus gilippus berenice* Cramer konnten verschiedene Pyrrolizidinon-Derivate isoliert werden (z. B. 12) [18, 19], deren Funktion darin besteht, die Weibchen anzulocken d. h. sie dienen als Sexualpheromone [20].

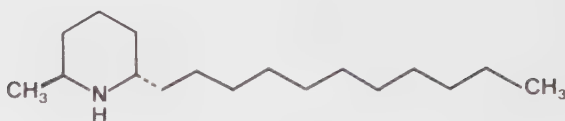
Bei der Untersuchung des Giftes der in Nordamerika vorkommenden Ameise *Solenopsis saevissima richteri* Forel (fire ant) stellte sich heraus, dass für die giftige Wirkung 2, 6-disubstituierte Piperidine (ein Vertreter davon ist 13) verantwortlich sind [21].

1) Eine ausführliche Zusammenfassung über Insektenalkaloide haben Tursch et al. verfasst [17].

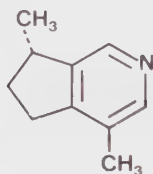
SCHEMA 3. Alkaloide aus verschiedenen Insekten



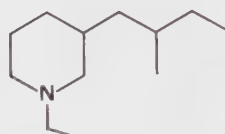
12



13



14



15

Ebenfalls als Abwehrstoff dient Actinidin (14), welches aus verschiedenen Staphyliniden (Coleoptera) isoliert werden konnte [22] . Die strukturelle Verwandtschaft mit Iridodial²⁾ fällt auf und es wird vermutet, dass Iridodial ein biogenetischer Vorläufer von Actinidin (14) ist.

Noch eine andere Funktion erfüllt Stenusin (15) , welches aus *Stenus comma* isoliert worden war [23] ; fällt der Käfer bei der Nahrungssuche ins Wasser verspritzt er eine Flüssigkeit, die hauptsächlich aus 15 besteht. Stenusin (15) dient also als Flotationsmittel.

2) Siehe Einleitung zum Teil I.

2. EXPERIMENTE ZUR BIOSYNTHESE VON COCCINELLIN (1)

Zu Beginn der vorliegenden Arbeit waren von Tursch et al. [24] Fütterungsversuche mit $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat und $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat an *Coccinella septempunctata* L. publiziert worden. Das mit Einbauraten von $2 \cdot 10^{-4}$ bzw. $3 \cdot 10^{-4}$ % erhaltene radioaktive Coccinellin (1) wurde durch Kuhn-Roth-Oxydation abgebaut und die gebildete Essigsäure in das 2-Naphthylacetamid überführt.

TABELLE 1. Experimente zur Biosynthese von Coccinellin (1) [24]

Vorläufer	spez. Aktivität in 1-hydrochlorid [dpm/mmol]	rel. Akt. %	spez. Aktivität in 2-Naphthylacetamid [dpm/mmol]	rel. Akt.	
				beob.	ber.
				%	
$1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat	$53,3 \cdot 10^3$	100	$9,0 \cdot 10^3$	16	16,7
$2\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat	$104,2 \cdot 10^3$	100	$17,6 \cdot 10^3$	16,8	14,3

Aufgrund der in der Tabelle 1 angeführten Werte hielten die Autoren [24] die Biosynthese des Coccinellins (1) aus Acetat über ein Polyketid für erwiesen,

s. Schema 4. Diese Interpretation bietet folgende Ansätze zur Kritik:

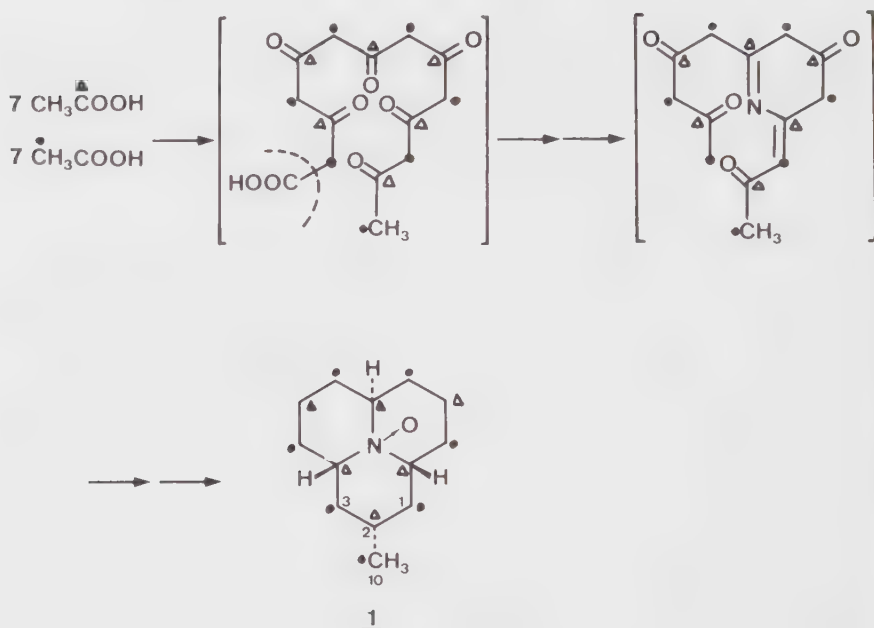
a) Die Bestimmung der spezifischen Aktivität von zwei C-Atomen ($^2/13$ der molaren Aktivität des Coccinellins (1)) ergäbe bei vollständiger Randomisierung der Radioaktivität mit 15,4 % einen Wert innerhalb der Fehlergrenze beider Abbauresultate, vgl. Tabelle 1.

b) Die spezifische Inkorporation beider Vorläufer via Mevalonat (16) , s. Schema 5 würde zur gleichen spezifischen Aktivität - $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat: 16,7 %, $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat: 14,3 % - in der durch Abbau des Coccinellins (1) erhaltenen Essigsäure - C(2+10) - führen.

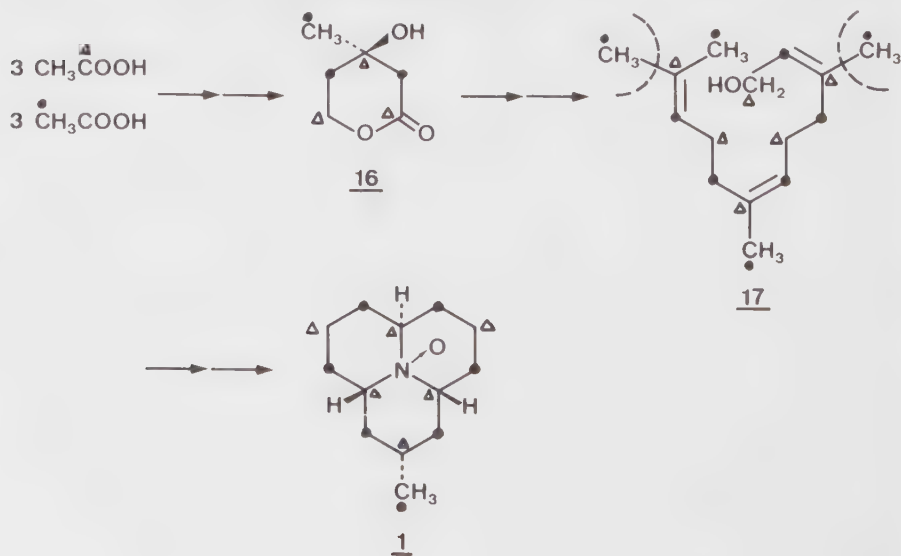
Offensichtlich ist mit den Resultaten von Tursch [24] weder ein spezifischer Einbau von Acetat bewiesen, noch eine Unterscheidung zwischen Polyketid- und Terpenbiogenese für Coccinellin (1) möglich.

Es schien deshalb sinnvoll, dieses ungelöste Problem aufzugreifen und zunächst mit Hilfe einfacher, bekannter Abbaumethoden, s. Schema 6, in Vorversuchen abzuklären, ob Acetat oder Mevalonat (16) spezifisch inkorporiert werden; bezüglich der zu erwartenden Radioaktivitätsverteilung in Coccinellin (1) s. Schemata 4 bzw. 7.

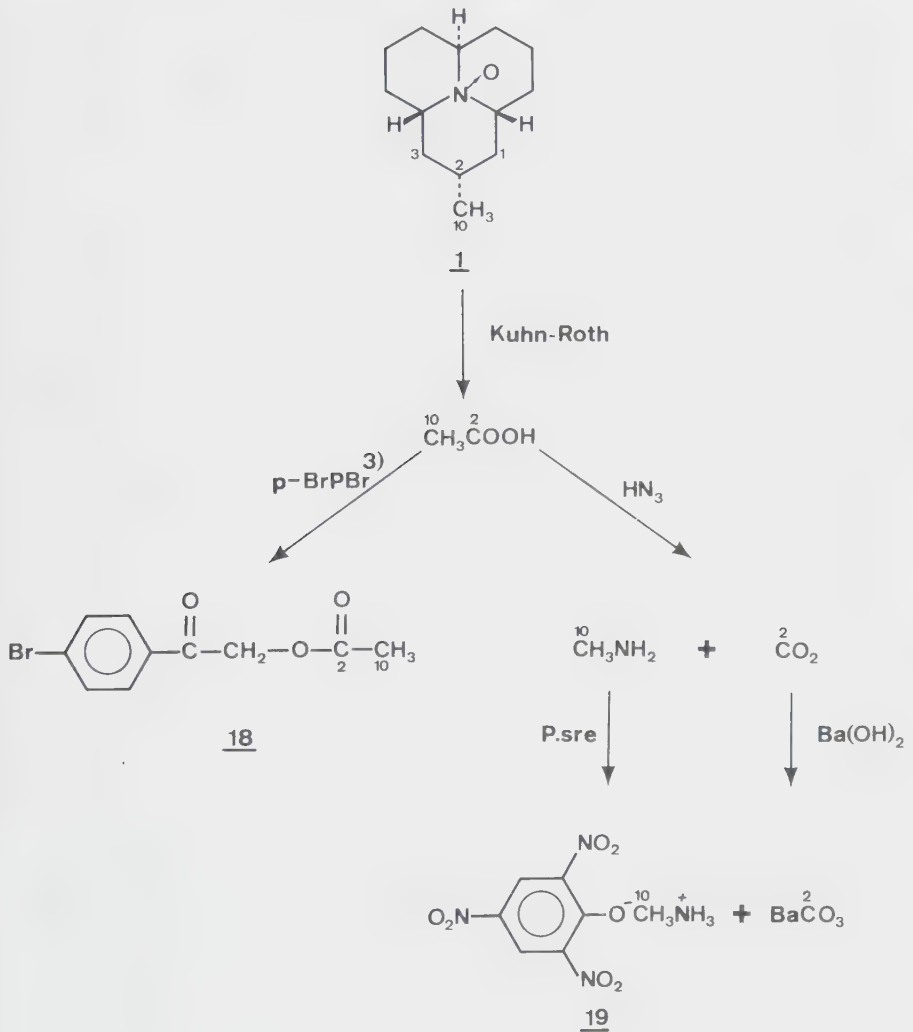
SCHEMA 4. Biosynthese von Coccinellin (1) aus 1- bzw. 2-¹⁴C-Acetat via Polyketid (nach Tursch et al. [24])



SCHEMA 5. Biosynthese von Coccinellin (1) aus 1- bzw. 2-¹⁴C-Acetat via Mevalonat (16) und Farnesol (17)

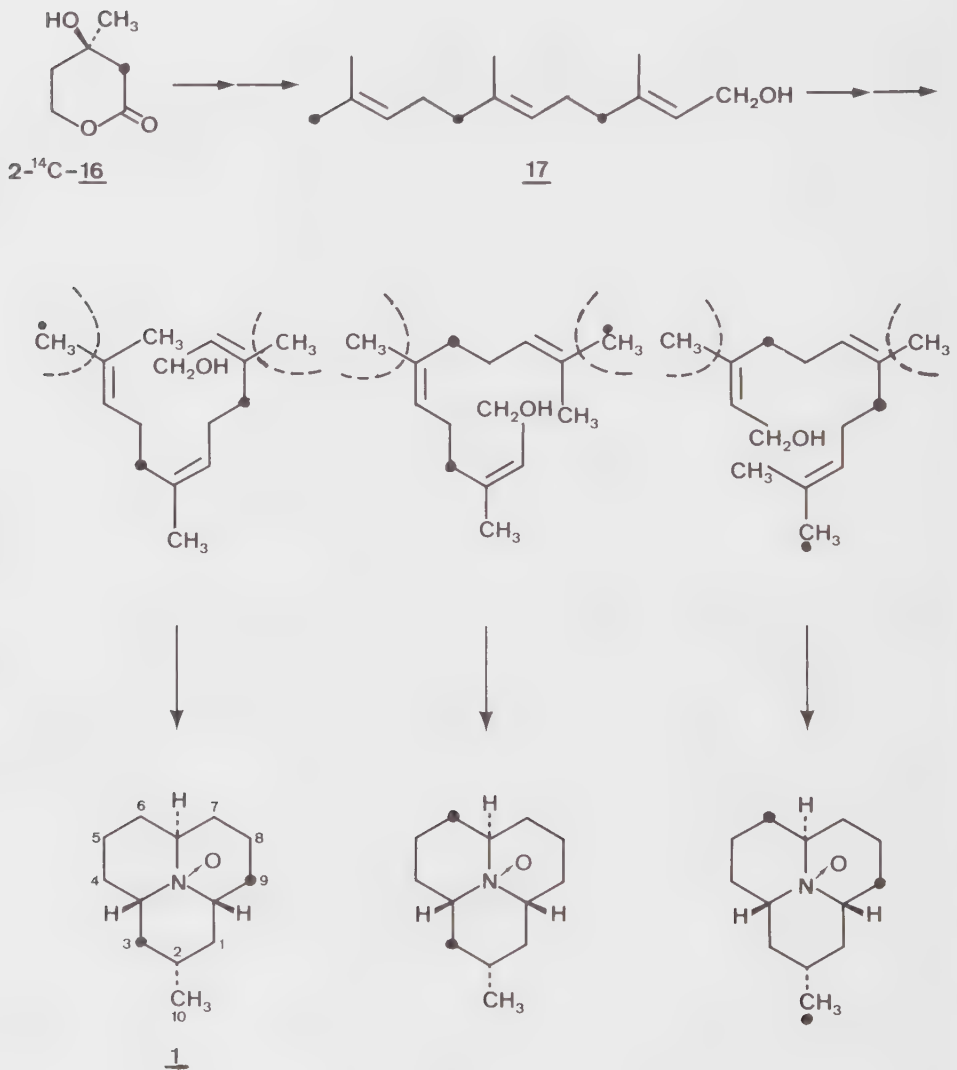


SCHEMA 6. Abbau von Coccinellin (1)



3) Die Erklärung der Abkürzungen ist im Abkürzungsverzeichnis zu finden.

SCHEMA 7. Vorschlag zur Biosynthese des Coccinellins (1) aus 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-16) via Farnesol (17)



3. RESULTATE

Die von uns durchgeführten Einbauversuche mit 2-¹⁴C-Acetat und 2-¹⁴C-Me-
valonat (2-¹⁴C-16) sind in den Tabellen 2 und 3 wiedergegeben.

Die Insekten wurden nach der angegebenen Zeit getötet, gemörsert, mit Me-
thanol extrahiert und das Coccinellin (1) durch Chromatographie an Aluminium-
oxid (Chloroform/Methanol 19 : 1) isoliert. Nach der Umwandlung in das Hydro-
chlorid und Verdünnung mit inaktivem Coccinellin-hydrochlorid reinigte man
bis zur konstanten spezifischen Aktivität durch wiederholtes Umkristallisieren
aus Methanol/Aether. Anschliessend wurde das Coccinellin (1) wieder als Base
freigesetzt und durch Kuhn-Roth-Oxydation abgebaut. Die Hälfte der entstande-
nen Essigsäure wurde in den p-Bromphenacyl-ester 18 überführt, die andere
Hälfte mit Natriumazid umgesetzt. Das gebildete CO₂ wurde als Bariumcarbo-
nat, das Methylamin als Pikrat 19 abgefangen. Die Resultate der verschiede-
nen Abbauxperimente sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Daraus kann entnommen werden, dass sowohl 2-¹⁴C-Acetat als auch 2-¹⁴C-
Mevalonat (2-¹⁴C-16) in Coccinellin (1) eingebaut wurden. In allen vier Experi-
menten wurde etwa ¹/7 der Aktivität des Coccinellins (1) in der Essigsäure ge-
funden, was vorerst Turschs Ergebnisse bestätigt. Aus den Resultaten des
Schmidt-Abbaus ist jedoch ersichtlich, dass die Aktivität der Essigsäure nicht
nur in einem C-Atom lokalisiert ist. Im Bariumcarbonat (C-Atom 2 von Cocc-
inellin (1)) werden 2 - 4 % der Aktivität des Coccinellins (14 - 27 % der Essig-
säure) gefunden. Nach Applikation von 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-16) wird, inner-
halb der Fehlergrenze, dieselbe Verteilung der Radioaktivität auf die C-Atome
2 und 10 im Coccinellin (1) gefunden, wie für 2-¹⁴C-Acetat. Diese Befunde le-
gen die Vermutung nahe, dass anstelle von Mevalonsäure Essigsäure eingebaut
wird, welche durch Metabolisierung der Mevalonsäure entstanden sein könnte.
Battu & Youngken untersuchten die Biosynthese der Monoterpe in der Pfeffer-
minzpflanze *Mentha piperita* L. und stellten fest, dass nach Applikation von
2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-16) die isolierten Monoterpe nur eine geringe spe-
zifische Aktivität aufwiesen, während das von den Pflanzen produzierte CO₂,
welches als Bariumcarbonat fixiert wurde, 0,38 - 4,2 % der applizierten Akti-
vität enthielt. Die Autoren interpretieren diese Ergebnisse folgendermassen:
Mevalonsäure wird in der Pflanze zu CO₂ metabolisiert, welches dann effektiv

TABELLE 2. Einbauversuche mit radioaktiv markierten Vorläufern in *Coccinella septempunctata* L. 4)

Experiment Nr.	Vorläufer	Anzahl Insekten	Versuchsdauer	spez. Aktivität von Coccinellin-hydro- chlorid [dpm/mmol]	Einbaurrate ^{a)} %
2. 1.	2- ¹⁴ C-Acetat	87	72 Std.	8,751 · 10 ⁵	0,36
2. 2.	2- ¹⁴ C-Mevalonat	85	72 - 96 Std.	2,016 · 10 ⁵	0,23
2. 3.	2- ¹⁴ C-Acetat	81	14- 15 Tage	2,573 · 10 ⁶	3,30
2. 4.	2- ¹⁴ C-Acetat	78	20 - 24 Std.	1,698 · 10 ⁵	0,09

4) Unser grosser Dank gilt Frau M. Stahel und Herrn Dr. H. Suter, Eidgenössische Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau im Reckenholz, Zürich, für die Aufzucht von *Coccinella septempunctata* L. für unsere Versuche.

a) Einbaurrate: totale Aktivität im Coccinellin (I) bezogen auf total isolierte Aktivität (Methanol-Wasserphase + Hexanphase, siehe experimenteller Teil).

TABELLE 3. Resultate des Abbaus von Coccinellin (1)

Experiment Nr.	Vorläufer	Verbindung	C-Atome	spezifische Aktivität dpm/mg [dpm/mmol]	rel. %
2. 1.	$2\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetat	Coccinellin- hydrochlorid	alle	$3,572 \cdot 10^3$ [$8,751 \cdot 10^5$]	100
		Essigsäure-p-brom- phenacyl ester	2 + 10	$4,85 \cdot 10^2$ [$1,246 \cdot 10^5$]	14,2
		BaCO ₃	2	$1,19 \cdot 10^2$ [$2,349 \cdot 10^4$]	2,9
		Methylammonium- pikrat	10	$2,82 \cdot 10^2$ [$7,332 \cdot 10^4$]	8,3
2. 2.	$2\text{-}^{14}\text{C}$ -Mevalonat	Coccinellin- hydrochlorid	alle	$8,23 \cdot 10^2$ [$2,016 \cdot 10^5$]	100
		Essigsäure-p-brom- phenacyl ester	2 + 10	$1,15 \cdot 10^2$ [$2,955 \cdot 10^5$]	14,6
		BaCO ₃	2	26 [$5,131 \cdot 10^3$]	2,55
		Methylammonium- pikrat	10	82 [$2,137 \cdot 10^4$]	10,58

TABELLE 3. (Fortsetzung)

Experiment Nr.	Vorläufer	Verbindung	C-Atome	spezifische Aktivität dpm/mg [dpm/mmol]	rel. %
2. 3.	^{14}C -Acetat	Coccinellin- hydrochlorid	alle	$1,050 \cdot 10^4$ [$2,573 \cdot 10^6$]	100
		Essigsäure-p-brom- phenacyl ester	2 + 10	$1,471 \cdot 10^3$ [$3,780 \cdot 10^5$]	14,7
		BaCO_3	2	$5,20 \cdot 10^2$ [$1,026 \cdot 10^5$]	3,98
		Methylammonium- pikrat	10	$1,047 \cdot 10^3$ [$2,722 \cdot 10^5$]	10,6
2. 4.	^{14}C -Acetat	Coccinellin- hydrochlorid	alle	$6,93 \cdot 10^2$ [$1,698 \cdot 10^5$]	100
		Essigsäure-p-brom- phenacyl ester	2 + 10	$1,09 \cdot 10^2$ [$2,801 \cdot 10^4$]	16,5
		BaCO_3	2	20 [$3,947 \cdot 10^3$]	2,3
		Methylammonium- pikrat	10	93 [$2,418 \cdot 10^4$]	14,2

in die Monoterpene eingebaut wird [25] . Ähnliches könnte in *Coccinella septempunctata* L. abgelaufen sein, wobei die Mevalonsäure, bevor sie an den Ort gelangen konnte, wo die Coccinellin-Biosynthese abläuft, zu Essigsäure und/oder CO_2 abgebaut worden wäre. Dies wären die effektiven Vorläufer für Coccinellin (1) gewesen.

Ebenfalls möglich wäre, dass Mevalonsäure sehr rasch in Coccinellin (1) eingebaut würde, welches wiederum relativ rasch zu den oben erwähnten Produkten abgebaut würde. Nach der im Vergleich zu den ablaufenden Reaktionen langen Versuchsdauer könnte dann nur noch der unspezifische Einbau registriert werden. Bei beiden Hypothesen kann jedoch ein terpenoider Ursprung des Coccinellins (1) nicht ausgeschlossen werden.

Die dritte Möglichkeit ist, dass Mevalonsäure kein Vorläufer für Coccinellin (1) ist, sondern dass nur die Bruchstücke Essigsäure und/oder CO_2 eingebaut werden.

Eine rasche Metabolisierung des Coccinellins (1) kann aufgrund des Experimentes 2. 3. ausgeschlossen werden, da hier Randomisierung der Aktivität auf praktisch alle C-Atome gleichmässig hätte festgestellt werden müssen. Zwischen der ersten und dritten Möglichkeit kann jedoch nicht unterschieden werden.

Eine Metabolisierung des Coccinellins (1) findet allerdings statt, wie aus einem Vergleich der Experimente 2. 3. und 2. 4. hervorgeht: die Randomisierung ist beim Langzeitversuch 2. 3. doppelt so hoch wie nach dem Kurzzeitexperiment 2. 4. Erstaunlich ist allerdings, dass zwischen den Experimenten 2. 1., 2. 2. und 2. 4. kein signifikanter Unterschied bezüglich der Verschmierung auftritt. Diese Beobachtung deutet eher darauf hin, dass auch die Essigsäure bis zu einem gewissen Grad zu C-1-Bruchstücken abgebaut wird, die wiederum Vorläufer für Coccinellin (1) sein können.

Wie der obigen Diskussion entnommen werden kann, ist es aufgrund der vier Experimente, die zur Biosynthese des Coccinellins (1) gemacht worden sind, unmöglich, einen eindeutigen Biosyntheseweg für Coccinellin (1) vorzuschlagen. Die Aussage von Tursch et al. - spezifischer Einbau von 1- und 2-¹⁴C-Acetat in Coccinellin (1) - konnte jedoch nicht bestätigt werden.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Bemerkungen - siehe Teil I.

Analytische Dünnschichtchromatogramme (DC.) an Aluminiumoxid (Polygram-Fertigfolien Alox N/UV₂₅₄, Macherey-Nagel) oder Kieselgel HF₂₅₄ (Merck); Sprühreagenzien: Kaliumiodoplatinatlösung nach [26] und Cer(IV)-sulfat in 2 N Schwefelsäure. - Säulenchromatographie: an Kieselgel Merck 0,063 - 0,200 mm oder Aluminiumoxid standardisiert, Aktivitätsstufe II - III nach Brockmann (Merck).

2-¹⁴C-Natriumacetat stammte von The Radiochemical Centre, Amersham, England; 2-¹⁴C-Mevalolacton von Dr. J. Würsch, Hoffmann-LaRoche AG, Basel.

1. ISOLIERUNG VON COCCINELLIN (1)

57,3 g Käfer *Coccinella septempunctata* L.⁵⁾ (gefriergetrocknet und gemahlen) wurden 3mal während 24 Std. bei RT. mit Methanol extrahiert. Die vereinigten Methanolextrakte wurden mit 10 Vol. % Wasser verdünnt und 6mal mit Hexan extrahiert. Die Methanol/Wasser-Phase wurde eingedampft, in Chloroform/Methanol 19 : 1 aufgenommen und über Aluminiumoxid (300 g, Chloroform/Methanol 19 : 1) filtriert. Das Filtrat wurde eingedampft; es lieferte 1,0 g (1,7 %) Rohalkaloide. Zusätzliche Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie (40 g Kieselgel, Chloroform/Methanol/Ammoniak 49 : 1 : 5, dann 19 : 1 : 2). Fraktionen 4 und 5 (je à ca. 50 ml) enthielten Coccinellin (1), welches aus Aceton umkristallisiert werden konnte.

Coccinellin (1): - IR. (KBr): 3400, 2960, 2935, 2880, 2740, 2680, 2660, 1650, 1468, 1450, 1392, 1380. - MS.: 209 (M⁺, 16), 192(100), 176(7), 164(4), 150(19), 96(7), 84(7).

Zur weiteren Reinigung eignete sich besser das Coccinellin-hydrochlorid. Das Coccinellin (1) wurde in Aceton gelöst, mit einigen Tropfen konz. Salz-

5) Bei Rorschach, Kanton St. Gallen gesammelt (1976). Ich danke meinen Kolleginnen und Kollegen für die tatkräftige Unterstützung beim Sammeln.

säure versetzt und 5 Min. stehen gelassen. Darauf wurde eingedampft und das Hydrochlorid aus Methanol/Aether umkristallisiert.

Coccinellin-hydrochlorid: Zers. ohne Schmelzen bei 220° . - IR. (KBr): 3440, 2960, 2945, 2890, 2710, 2540, 2500, 1528, 1499, 1470, 1455, 1440, 1375.

$C_{13}H_{24}NOCl$ (245,79)	Ber.	C 63,52	H 9,84	N 5,69 %
	Gef.	C 63,38	H 9,71	N 5,76 %

2. EINBAUVERSUCHE IN COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA L.

vgl. Tabelle 2

2.1. Einbauversuch mit $2-^{14}C$ -Natriumacetat

1 mCi (spezifische Aktivität 58 mCi/mmol) $2-^{14}C$ -Natriumacetat wurden in 0,5 ml Wasser gelöst und an 87 Käfer *Coccinella septempunctata* L. mittels einer feinen Glaskapillare injiziert. Die Käfer wurden noch 2 Tage am Leben gelassen (alle überlebten) und dann durch Einfrieren getötet. Die toten Insekten wurden gemörsert und aus dem Mahlgut wie unter 1. beschrieben das Coccinellin (1) isoliert und in sein Hydrochlorid überführt. Das radioaktive Rohcoccinellin-hydrochlorid (22,56 mg) wurde mit 53,76 mg inaktivem Hydrochlorid verdünnt und bis zur Radiokonstanz aus Methanol/Aether umkristallisiert. So konnten 39,43 mg radioaktives Coccinellin-hydrochlorid mit der nachfolgenden spezifischen Aktivität erhalten werden:

Zählungen:

Methanol/Wasser-Phase:	$3,144 \cdot 10^7$ dpm total
Hexanphase:	$3,11 \cdot 10^7$ dpm total
Coccinellin-hydrochlorid:	$5,778 \cdot 10^3$ dpm/mg

Das Coccinellin-hydrochlorid wurde nochmals mit 25,30 mg inaktivem verdünnt. Zählung: $3,572 \cdot 10^3$ dpm/mg (ber. $3,519 \cdot 10^3$ dpm/mg). Für den Kuhn-Roth-Abbau wurde das Coccinellin-hydrochlorid wieder in die freie Base 1 überführt. Dazu wurde das Coccinellin-hydrochlorid in verd. K_2CO_3 -Lösung gelöst und im Perforator 3 Std. mit Methylenchlorid extrahiert. Methylenchlorid wurde abgedampft und das Coccinellin (1) in ein abgeschnittenes Reagenzglas transferiert, am HV. getrocknet und in den Kuhn-Roth-Abbau eingesetzt (42,18 mg).

2.2. Einbauversuch mit 2-¹⁴C-Mevalonat (2-¹⁴C-16)

1 mCi (19 mg, spezifische Aktivität 52,2 μ Ci/mg) Mevalolacton wurden in einem Gemisch von Benzol/Methanol gelöst, mit einem Tropfen einer 1proz. äthanolischen Lösung von Phenolphthalein versetzt und mit 0,1 N NaOH bis zum Umschlagspunkt titriert. Es wurde 2 Std. bei RT. stehen gelassen und dann bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 0,3 ml Wasser aufgenommen und an 85 Käfer *Coccinella septempunctata* L. injiziert. Nach 2 Tagen wurden die Käfer wie unter 1. und 2.1. beschrieben aufgearbeitet. Rohcoccinellin-hydrochlorid: 29,67 mg; verdünnt mit 50,16 mg, lieferten nach Umkristallisation bis zur konstanten Aktivität 34,20 mg 1-Hydrochlorid. Zählungen:

Methanol/Wasser-Phase:	1,3 $\cdot 10^7$ dpm total
Hexan-Phase:	8,5 $\cdot 10^6$ dpm total
Coccinellin-hydrochlorid:	1,474 $\cdot 10^3$ dpm/mg

Das Coccinellin-hydrochlorid wurde nochmals mit 29,48 mg inaktivem 1-Hydrochlorid verdünnt. Zählung: 823 dpm/mg (ber. 792 dpm/mg). Es wurde wie unter 2.1. beschrieben in die freie Base 1 überführt (54,3 mg).

2.3. Einbauversuch mit 2-¹⁴C-Natriumacetat

1 mCi (spezifische Aktivität 55 mCi/mmol) wurde an 81 Exemplare *Coccinella septempunctata* L. injiziert. Nach 14 Tagen waren 15 tot, 66 lebten noch. Mit den Insekten wurde wie unter 1. und 2.1. weiter verfahren. Ausbeute an Rohcoccinellin-hydrochlorid: 25,91 mg. Wurde verdünnt mit 57,20 mg inaktivem 1-Hydrochlorid. Nach Umkristallisation bis zur konstanten Aktivität wurden 58,66 mg 1-Hydrochlorid erhalten.

Zählungen:

Methanol/Wasser-Phase:	1,086 $\cdot 10^7$ dpm total
Hexanphase:	1,0 $\cdot 10^7$ dpm total
Coccinellin-hydrochlorid:	1,2 $\cdot 10^4$ dpm/mg

Das Coccinellin-hydrochlorid wurde nochmals mit 8,37 mg inaktivem 1-Hydrochlorid verdünnt. Zählung: 10 503 dpm/mg (ber. 10 500 dpm/mg). Nach Freisetzen der Base 1 wurden 56,83 mg Coccinellin (1) erhalten.

2.4. Einbauversuch mit 2-¹⁴C-Natriumacetat

1 mCi (spezifische Aktivität 58 mCi/mmol) wurden an 78 Exemplare *Coccinella septempunctata* L. injiziert. Nach 24 Std. wurden die Insekten getötet (alle hatten überlebt) und wie unter 1. und 2.1. beschrieben aufgearbeitet. Rohcoccinellin-hydrochlorid: 16,91 mg, wurden verdünnt mit 54,89 mg inaktivem 1-Hydrochlorid. Nach Umkristallisation bis zur Radiokonstanz erhielt man 21,12 mg 1-Hydrochlorid.

Zählungen:

Methanol/Wasser-Phase:	$3,972 \cdot 10^8$ dpm total
Hexanphase:	$2,791 \cdot 10^7$ dpm total
Coccinellin-hydrochlorid:	$1,804 \cdot 10^3$ dpm/mg

Das Coccinellin-hydrochlorid wurde nochmals verdünnt mit 31,72 mg inaktivem 1-Hydrochlorid. Zählung: 693 dpm/mg (ber. 721 dpm/mg). Nach Freisetzen der Base wurden 35,97 mg Coccinellin (1) erhalten.

3. ABBAU VON COCCINELLIN (1) NACH KUHN-ROTH

vgl. Tabelle 3

Die verschiedenen radioaktiven Coccinellinpräparate aus den Einbauversuchen 2.1. bis 2.4. wurden nach der folgenden Vorschrift abgebaut:

20 ml Chromschwefelsäure, die nach [27] hergestellt worden war, wurden in den Kolben einer Kuhn-Roth-Destillationsapparatur gegeben. Bei konstantem Volumen wurden 20 ml Wasser in eine Vorlage, in der sich 10 ml Wasser und einige Tropfen einer lproz. äthanolischen Lösung von Phenolphthalein befanden, abdestilliert. Das Destillat wurde durch Zugabe von 0,1 N NaOH bis zum Umschlagspunkt von Phenolphthalein titriert (Verbrauch: 0,07 ml = Blindwert).

Zur abgekühlten Chromschwefelsäure wurde das Coccinellin (1) gegeben, langsam erwärmt und während ca. 4 Std. 80 ml Wasser-Essigsäure-Gemisch abdestilliert. Das Destillat wurde mit einem Ueberschuss an 0,1 N NaOH versetzt, in zwei Hälften geteilt und je bis zur Trockne eingedampft.

In einem Vorversuch mit 40,62 mg (0,194 mmol) inaktivem Coccinellin (1)

war anhand des isolierten p-Bromphenacylesters (34,7 mg, 0,135 mmol) eine Ausbeute von 70 % ermittelt worden.

Darstellung des Essigsäure-p-bromphenacylesters:

Vgl. Teil I/B Versuch 3.7. Chromatographie (präp. DC.) an Kieselgel (Benzol/Aether 9 : 1), Umkristallisation aus Aether/Pentan; Sublimation bei $85^{\circ}/0,01$ Torr. - Smp. $84,3 - 85,1^{\circ}$ (86° , [28]). Ausbeute aus inaktivem Vorversuch; 97 %.

4. SCHMIDT-ABBAU VON ESSIGSAEURE

vgl. Tabelle 3

Die verschiedenen radioaktiven Essigsäure-präparate aus den Kuhn-Roth-Abbaureaktionen der Coccinelline aus den Versuchen 2.1. bis 2.4. wurden wie folgt zu Methylamin und CO_2 abgebaut:

Die eine Hälfte des Natriumacetats aus Versuch 3. wurde mit Methanol in den einen Schenkel der von Britt [29] beschriebenen Apparatur mit Doppelschenkelampulle transferiert und das Methanol mit Stickstoff abgeblasen. In denselben Schenkel gab man einen etwa 1,4-fachen Ueberschuss Natriumazid, während in den anderen Schenkel ca. 1,5 g Polyphosphorsäure gegeben wurden. Die Ampulle war über ein T-Stück mit einem Kolben verbunden, in dem 10 ml $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung [29] vorgelegt waren. Die Apparatur wurde am Wasserstrahlvakuum evakuiert und durch Umschwenken des Schenkels die Polyphosphorsäure zu den Salzen fließen gelassen. Der Schenkel wurde im Wasserbad 1 Std. auf 80° erwärmt und weitere 3 Std. bei RT. stehen gelassen. Das entstandene BaCO_3 wurde abzentrifugiert, 5mal mit heissem bidestilliertem Wasser und je 2mal mit Methanol und Aether gewaschen und anschliessend bei $60^{\circ}/0,01$ Torr getrocknet. In einem inaktiven Vorversuch mit 9,34 mg (0,114 mmol) wasserfreiem Natriumacetat wurden 18,20 mg (0,092 mmol) Bariumcarbonat erhalten (81 %).

Methylammoniumpikrat:

Das Methylamin wurde aus dem polyphosphorsauren Rückstand der Schmidt-Reaktion durch Zugabe eines Ueberschusses an 30proz. NaOH freigesetzt und über eine Mikrodestillationsbrücke in eine Vorlage mit ca. 1,4-fachem Ueberschuss an Pikrinsäure in Aethanol abdestilliert. Nach dem Abdampfen des

Aethanols wurde der Rückstand 2mal mit heissem Benzol gewaschen, anschließend aus Aethanol umkristallisiert und am HV. getrocknet. Inaktiver Vorversuch: 5,9 mg (0,087 mmol) Methylamin-hydrochlorid ergaben 13,69 mg (0,053 mmol, 61 %) Methylammoniumpikrat. - Smp. 204,9 - 206,8° (207°; 215° [28]).

C. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. M. Happ & T. Eisner, Science 134, 329 (1961).
- [2] B. Tursch, D. Daloze, M. Dupont, J. M. Pasteels & M. -C. Tricot, Experientia 27, 1380 (1971).
- [3] B. Tursch, D. Daloze, M. Dupont, C. Hootele, M. Kaisin, J. M. Pasteels & D. Zimmermann, Chimia 25, 307 (1971).
- [4] R. Karlsson & D. Losman, Chem. Commun. 1972, 626.
- [5] J. M. Pasteels, C. Deroe, B. Tursch, J. C. Braekman, D. Daloze & C. Hootele, J. Insect Physiol. 19, 1771 (1973).
- [6] B. Tursch, D. Daloze, J. C. Braekman, C. Hootele, A. Cravador, D. Losman & R. Karlsson, Tetrahedron Letters 1974, 409.
- [7] B. Tursch, D. Daloze, J. C. Braekman, C. Hootele & J. M. Pasteels, Tetrahedron 31, 1541 (1975).
- [8] B. Tursch, D. Daloze & C. Hootele, Chimia 26, 74 (1972).
- [9] W. A. Ayer, M. J. Bennett, L. M. Browne & J. T. Purdham, Canad. J. Chemistry 54, 1807 (1976).
- [10] W. A. Ayer & K. Furnichi, Canad. J. Chemistry 54, 1494 (1976).
- [11] W. A. Ayer, R. Dawe, R. A. Eisner & K. Furnichi, Canad. J. Chemistry 54, 473 (1976).
- [12] R. H. Mueller & M. E. Thompson, Tetrahedron Letters 1979, 1991.
- [13] W. A. Denne, S. R. Johns, J. A. Lamberton, A. McL. Mathieson & H. Soares, Tetrahedron Letters 1972, 1767.
- [14] W. A. Denne & A. McL. Mathieson, J. Cryst. mol. Struct. 3, 139 (1973).
- [15] S. R. Johns, J. A. Lamberton, A. A. Sioumis & H. Soares, Austral. J. Chemistry 27, 2025 (1974).
- [16] E. J. Corey & R. B. Balanson, J. Amer. chem. Soc. 96, 6516 (1974).
- [17] B. Tursch, J. C. Braekman & D. Daloze, Experientia 32, 401 (1976).
- [18] J. Meinwald & Y. C. Meinwald, J. Amer. chem. Soc. 88, 1305 (1966).
- [19] J. Meinwald, Y. C. Meinwald & P. H. Mazzocchi, Science 164, 1174 (1969).
- [20] T. E. Pliske & T. Eisner, Science 164, 1170 (1969).
- [21] J. G. MacConnell, M. S. Blum & H. M. Fales, Tetrahedron 27, 1129 (1971).
- [22] T. Sakan, A. Fujino, F. Murai, Y. Butsugan & A. Suzuki, Bull. chem. Soc. Japan 32, 315 (1959).
- [23] H. Schildknecht, D. Krauss, J. Connert, H. Essenbreis & N. Orfanides, Angew. Chemie 87, 421 (1975).
- [24] B. Tursch, D. Daloze, J. C. Braekman, C. Hootele & J. M. Pasteels, Tetrahedron 31, 1541 (1975).
- [25] R. G. Battu & H. W. Youngken Jr., Lloydia 29, 360 (1966).

- [26] E. Schlittler & J. Hohl, Helv. 35, 29 (1952).
- [27] C.F. Garbers, H. Schmid & P. Karrer, Helv. 37, 1336 (1954).
- [28] Handbook of Tables for Organic Compound Identification, 3rd Edition, The Chemical Rubber Co. 1967.
- [29] J.J. Britt, Dissertation ETH No. 2948, Zürich 1959.

DRITTER TEIL

Beiträge zur Biosynthese des Cantharidins

A. THEORETISCHER TEIL

1. EINLEITUNG

Insekten der Familie Meloidae (Coleoptera) enthalten als charakteristischen Inhaltsstoff das Cantharidin (1), eine farblose kristalline Verbindung, die schon 1810 von Robiquet [1] aus der "spanischen Fliege" *Lytta vesicatoria* L. isoliert worden war¹⁾.

Zur Biosynthese des Cantharidins (1) sind zahlreiche Arbeiten in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt worden [4, 5, 6, 7] . Sie haben eindeutig gezeigt, dass Mevalonsäure (2²⁾) und Farnesol (3) von männlichen *Lytta vesicatoria* L. spezifisch in Cantharidin (1) eingebaut wird (Schema 1).

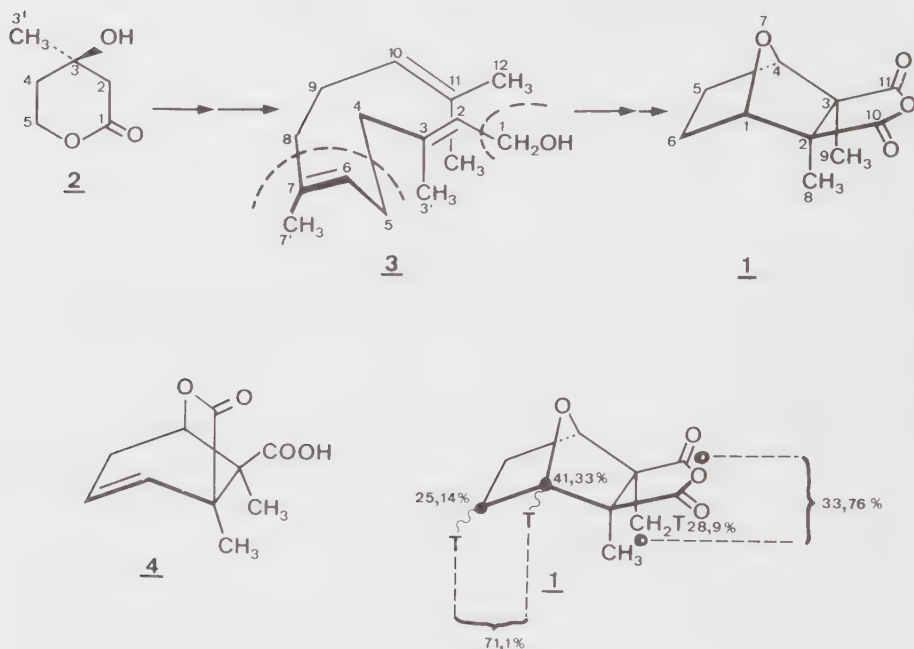
Die Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen C-Atome im Cantharidin (1) nach Applikation von 2-(³H, ¹⁴C)-Mevalonat (2-(³H, ¹⁴C-2) als Vorläufer war durch einen stereospezifischen Abbau über die chirale (+)-Cantharsäure (4) bestimmt worden [8] . Die Resultate dieses Abbaus sind ebenfalls in Schema 1 wiedergegeben. Daraus ist ersichtlich, dass Mevalonsäure (2) spezifisch in Cantharidin (1) eingebaut wird; im Verlaufe der Biosynthese findet eine Aequilibration zwischen den C-Atomen 2 und 3' in der Mevalonsäure (2) statt, was zur Gleichverteilung der Radioaktivität auf die C-Atome 9 und 11 im Cantharidin (1) führt³⁾.

1) Eine ausführliche Darstellung der Arbeiten zur Chemie und Strukturaufklärung sowie zur physiologischen Wirkung des Cantharidins (1) ist in [2, 3] zu finden.

2) Wie in der Biosynthese-Literatur üblich wird hier das 3(R)-Mevalonat gezeigt, obwohl für die Experimente meist ein racemisches Gemisch des Natriumsalzes der 3(RS)-Mevalonsäure verwendet wird.

3) Siehe auch Einleitung zum Teil I.

SCHEMA 1. Teilschritte der Biosynthese des Cantharidins (1) und Resultate des Abbaus über (+)-Cantharsäure (4) $\bullet$ ^{14}C
 T ^3H



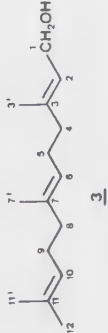
Die Abbauresultate stützen die Hypothese, dass Farnesol (3) ein Zwischenprodukt der Biosynthese des Cantharidins (1) ist. Zum Teil treten Abweichungen von den theoretisch zu erwartenden Werten auf, doch soll hier nicht näher darauf eingegangen werden; eine Diskussion der möglichen Ursachen ist in [8] zu finden.

Dass Farnesol (3) effektiv ein Vorläufer für Cantharidin (1) ist, zeigen zahlreiche Einbauversuche mit radioaktiv markierten Farnesolen. Einige dieser Experimente sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Wo es die spezifische Aktivität des Cantharidinpräparates zuließ, wurde dieses nach einer der bekannten Abbaumethoden abgebaut und ein spezifischer Einbau des Vorläufers nachgewiesen⁴⁾.

Aus den Ergebnissen dieser Einbauversuche ist ersichtlich, dass Farnesol (3)

4) Eine Übersicht über die verschiedenen Abbaumethoden für Cantharidin (1) findet sich in [8] .

TABELLE 1. Einbauversuche mit verschiedenen radioaktiv markierten Farnesolen in Cantharidin (1)

Vorläufergemisch	markierte Atome		$^3\text{H}/^{14}\text{C}$ - Verhältnis im Vorläufer	Einbauten ^{a)} in Cantharidin		$^3\text{H}/^{14}\text{C}$ - Verhältnis im Cantharidin	Literatur
	^3H	^{14}C		^3H	^{14}C		
 3							
	-	1	-	kein Einbau		-	[7]
		2	-	+		-	[7]
	11', 12	2	6, 0	0, 01- 0, 2	1, 1- 6, 3	0, 181	[9]
	11', 12	7	5, 16	0, 043	0, 0026	85, 2	[10]
E, E-Farnesol ^{d)}	11', 12	5, 6	3, 47	0, 19	0, 030	22, 3	[10]
E, E-Farnesol ^{c)}	11', 12	2	9, 53			4, 24	[11]
E, E-Farnesol ^{c)d)} + 2E, 6Z-Farnesol	11', 12	2	11, 3			95, 5	[11]

a) bezogen auf total aus den Käfern isolierte Aktivität

c) *Lytta vesicatoria* L.

b) Stereoisomerengemisch

d) *Mylabris variabilis* Pall.

TABELLE 1. Fortsetzung

Vorläufergemisch	markierte Atome		${}^3\text{H}/{}^{14}\text{C}$ - Verhältnis im Vorläufer	Einbautraten ^{a)} in Cantharidin		${}^3\text{H}/{}^{14}\text{C}$ - Verhältnis im Cantharidin	Literatur
	${}^3\text{H}$	${}^{14}\text{C}$		${}^3\text{H}$	${}^{14}\text{C}$		
E, E-Farnesol ^{d)} + 2Z, 6E-Farnesol	11', 12	2	6, 20			5, 55	[11]
E, E-Farnesol ^{d)} + Z, Z-Farnesol	11', 12	2	6, 80			141	[11]
E, E-Farnesol ^{c)}	11', 12	4	9, 70	5, 7	14, 3	6, 0	[11]
E, E-Farnesol ^{c)}	11', 12	2, 4	3, 13	2, 3	4, 4	1, 52	[11]
2E, 6Z-Farnesol ^{c)} + E, E-Farnesol	11', 12	4	23, 7	0, 31	2, 31	2, 52	[11]

a) bezogen auf total aus den Käfern isolierte Aktivität

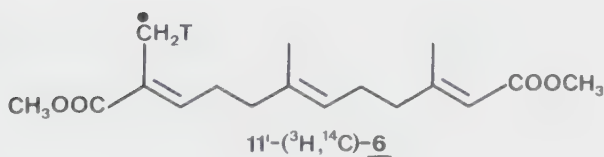
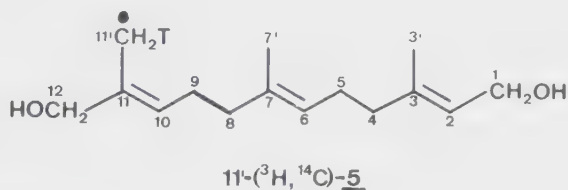
c) *Lytta vesicatoria* L.

d) *Mylabris variabilis* Pall.

unter Verlust der C-Atome 1, 5, 6, 7 und 7' in Cantharidin (1) eingebaut wird. Durch kompetitiven Einbau verschiedener Stereoisomeren von Farnesol (3) konnte gezeigt werden, dass (E, E)-3 und (2Z, 6E)-Farnesol ((2Z, 6E)-3) die eigentlichen Vorläufer für Cantharidin (1) sind. Der um den Faktor 2 schlechtere Einbau von (2Z, 6E)-Farnesol ((2Z, 6E)-3) wird mit einer möglichen Isomerisierung der (2Z)-Doppelbindung zu (E, E)-Farnesol ((E, E)-3) erklärt [11] . Diese Experimente machen auch einen gleichzeitigen Einbau der beiden Molekülhälften des Farnesols (3) sehr wahrscheinlich.

Als weitere mögliche Vorläufer für Cantharidin (1) sind das 12-Hydroxyfarnesol (5) und der Diester 6 (Schema 2) in Betracht gezogen worden. Um diese Hypothese zu prüfen wurden 11'-(³H, ¹⁴C)-5 und 11'-(³H, ¹⁴C)-6 an *Lytta vesicatoria* L. injiziert. In beiden Fällen konnte jedoch kein spezifischer Einbau festgestellt werden [3] .

SCHEMA 2. Radioaktive Vorläufer, die an *Lytta vesicatoria* L. appliziert wurden



2. PROBLEMSTELLUNG

Durch zahlreiche Experimente war bis jetzt festgestellt worden, dass Mevalonsäure (2) und Farnesol (3) Vorläufer von Cantharidin (1) sind, wobei vermutet wird, dass Mevalonsäure (2) zuerst in Farnesol (3) übergeht, welches auf unbekannte Art und Weise in Cantharidin (1) umgewandelt wird. Um einen Anhaltspunkt zu haben, wie diese Umwandlung vor sich gehen könnte, sollte in den Käfern nach möglichen Zwischenprodukten dieser Biosynthese gesucht werden.

Im Verlaufe dieser Arbeiten war Cholesterin (7) (Schema 6) als Inhaltsstoff aus *Lytta vesicatoria* L. isoliert worden. Bekannterweise sind Insekten unfähig das Steroidgerüst selbst zu synthetisieren [12] ; da jedoch *Lytta vesicatoria* L. Farnesol (3) aus Mevalonsäure (2) synthetisieren kann [3] , wurde untersucht, ob sie nicht auch die Fähigkeit besitzen, ihre Steroide selbst zu synthetisieren.

Corey & Volante publizierten in einer Kurzmitteilung die Synthese von Terpenanaloga als Enzyminhibitoren [13] . Es wurde versucht Homofarnesylphosphonophosphat (8) zu synthetisieren, das die Umwandlung von Farnesol (3) in Cantharidin (1) blockieren sollte. Die Gründe für die Durchführung des Blockierungsexperimentes mit Homofarnesylphosphonophosphat (8) waren folgende:

a) Kenntnis über die Substratspezifität des Enzyms F2 zu erhalten:



b) Bei erfolgreicher Hemmung der Cantharidinbiosynthese sollte radioaktives Mevalonat (2) als Vorläufer in Farnesol (3) akkumuliert werden können. Nach Isolierung mittels "hot trap" [14] könnte 3 einem regiospezifischen Abbau zur getrennten Bestimmung der Radioaktivität in den endständigen Methylgruppen des Farnesols (3) (Aequilibrierungsproblem) unterworfen werden. Das aus den Tieren isolierte Cantharidin wäre dabei inaktiv.

3. UNTERSUCHUNG DER INHALTSSTOFFE VON *LYTTA VESICATORIA* L.

Die einzige Arbeit über andere Inhaltsstoffe als Cantharidin (1) aus *Lytta vesicatoria* L. stammt von Janot & Faudemay (1937) [15] . Die Autoren beschreiben die Isolierung der Fettsäuren Palmitin-, Oel-, Linol- und Linolensäure sowie von Cholesterin (7) und des Kohlenwasserstoffes Heneicosan ($C_{21}H_{44}$).

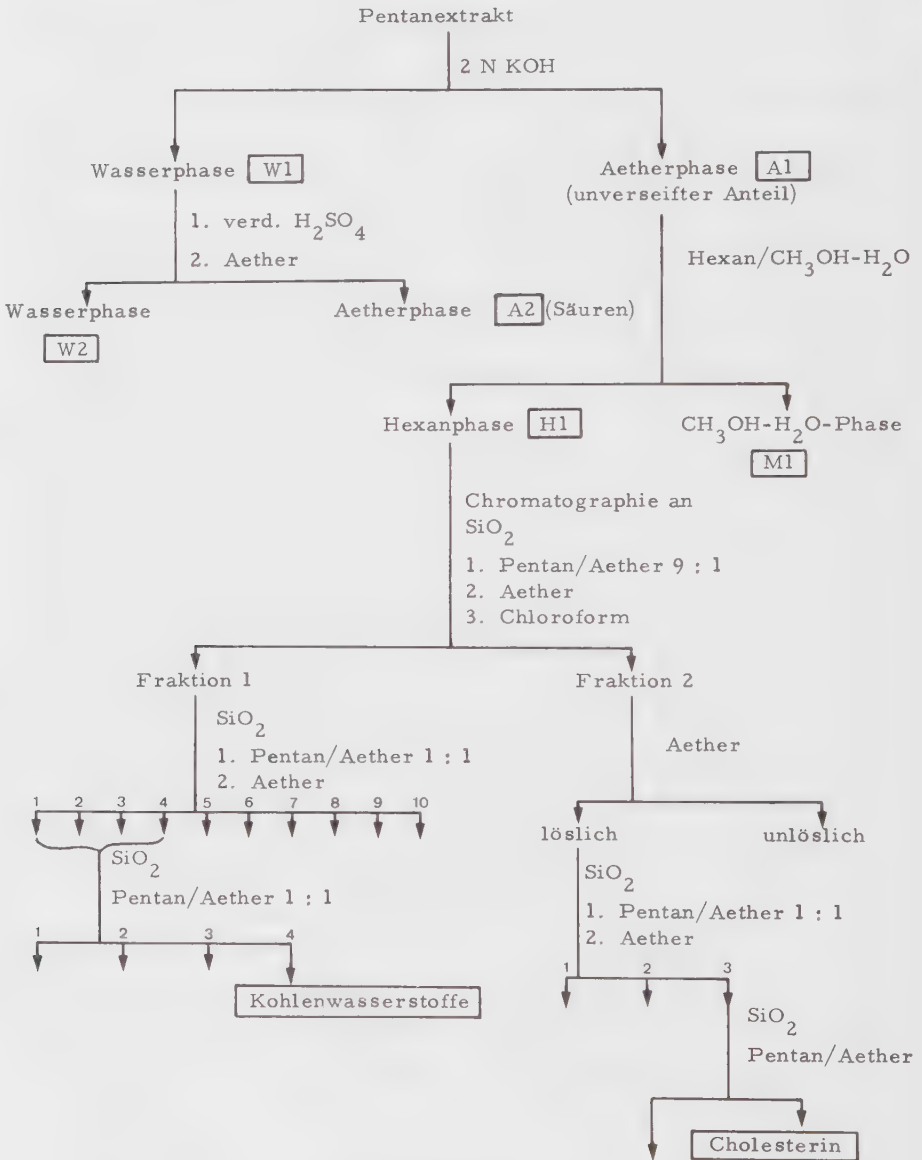
Für die eigenen Untersuchungen der Inhaltsstoffe von *Lytta vesicatoria* L. wurden die Käfer gefriergetrocknet, gemahlen und nacheinander mit Pentan, Aether, Methylenchlorid, Aceton und Methanol extrahiert.

230 g Käferpulver lieferten nach der Extraktion mit Pentan 37 g zähflüssiges Oel, welches mit 2 N KOH verseift wurde. Es wurde erwartet, dass die interessierenden terpenoiden Substanzen sich am ehesten unter den unverseiften Verbindungen befinden würden. Die Auftrennung des unverseiften Anteils erfolgte wie in Schema 3 dargestellt:

Separierung in polare und weniger polare Bestandteile durch Verteilung zwischen Hexan (H1) und Methanol/Wasser (M1) und Säulenchromatographie (Kieselgel, Pentan/Aether 9 : 1, Aether, Chloroform) der Fraktion (H1) lieferte ein Gemisch wachsähnlicher Substanzen (Fraktion 1), welches durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) weiter aufgetrennt wurde. GC.-Analyse der einzelnen Zonen zeigte, dass es sich dabei immer noch um Gemische handelte. Diese Gemische wurden durch GC./MS.-Kopplung analysiert⁵⁾. Dadurch konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Verbindungen um Gemische von Kohlenwasserstoffen handelte. Eindeutig identifiziert werden konnten folgende Verbindungen: die gesättigten geradkettigen Kohlenwasserstoffe C_{11} bis C_{21} . Ferner war aus den GC./MS.-Spektren ersichtlich, dass der ein-, zwei- und dreifach ungesättigte C_{17} -Kohlenwasserstoff ebenfalls vorkommt, die Lage und Konfiguration der Doppelbindungen kann jedoch aus dem MS.-Spektrum nicht entnommen werden. Ferner kommen noch höhere Kohlenwasserstoffe vor, deren Molekulargewicht jedoch nicht genau bestimmt wurde. Da es sich offensichtlich bei den isolierten Verbindungen nicht um interessante Substanzen terpenoiden Ursprungs handelte, wurde von einer weiteren genauen Identifikation abgesehen.

5) Wir danken den Herren Dr. N. Neuner-Jehle und G. Zarske, Givaudan SA, Dübendorf, für die Aufnahme von GC./MS.-Spektren.

SCHEMA 3. Auftrennung des Pentanextraktes aus *Lytta vesicatoria* L.



Bei den anderen Verbindungen, die noch in dieser Fraktion gefunden wurden, handelte es sich grösstenteils um noch nicht verseifte Fettsäuremethylester oder um mitgeschleppte Fettsäuren.

Weitere Auftrennung der Fraktion 2 aus der ersten Säulenchromatographie, wie in Schema 3 dargestellt, führte zur Isolierung von Cholesterin (7). Es zeigte ein deckungsgleiches IR.-Spektrum mit käuflichem Cholesterin und keine Erniedrigung des Mischschmelzpunktes. Es wurde zusätzlich durch Ueberführen in den Benzoesäureester charakterisiert.

Unter den verseiften Verbindungen befanden sich ausschliesslich Fettsäuren, die zur Charakterisierung mit Diazomethan in ihre Methylester überführt wurden. Diese Methylester konnten wiederum durch GC./MS.-Analyse und durch GC.-Vergleich mit käuflichen Vergleichssubstanzen identifiziert werden. Folgende Methylester wurden charakterisiert: Laurin-, Myristin-, einfach ungesättigter C₁₆-Carbonsäuremethylester (vermutlich Palmitoleinsäuremethylester), Palmitin-, Linol-, Oel-, 3fach ungesättigter C₁₈-Carbonsäuremethylester (vermutlich Linolensäuremethylester) und Stearinsäuremethylester.

Bei den ungesättigten Fettsäuremethylestern wurde die Lage und Konfiguration der Doppelbindung nicht bestimmt, es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass es sich dabei um die angegebenen Fettsäuremethylester handelt, die auch schon von [15] in *Lytta vesicatoria* beschrieben worden sind (mit Ausnahme des Palmitoleinsäuremethylester).

Untersuchung eines nicht verseiften Pentanextraktes von *Lytta vesicatoria* L. zeigte, dass diese Fettsäuremethylester zu den Inhaltsstoffen von *Lytta vesicatoria* L. gehören. Eine quantitative GC.-Analyse mit Eicosan als internem Standard und Aufnahme von Eichkurven für Myristin- und Linolsäuremethylester ergab die in Tabelle 2 zusammengefassten Resultate.

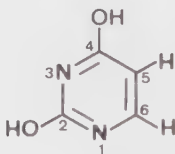
TABELLE 2. Fettsäuremethylester aus *Lytta vesicatoria* L.

Fettsäuremethylester	rel. %
Myristin-	1,2
Palmitolein-	6,1
Palmitin-	37,8
Linol-	12,4
Linolen- und Oel-	38,9
Stearin-	3,6

Der Aetherextrakt aus *Lytta vesicatoria* L. enthielt wesentlich polarere Bestandteile als der Pentanextrakt. 3,6 g Substanzgemisch (aus 228 g Käferpulver) wurden säulenchromatographisch aufgetrennt (Kieselgel, Chloroform/Methanol/Ammoniak 8 : 2 : 1), wobei als Hauptbestandteile Uracil (Schema 4) und Glycerin isoliert wurden. Die IR.- und ^1H -NMR.-Spektren der beiden Verbindungen waren identisch mit denjenigen von Vergleichssubstanzen.

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen der weiteren Extrakte Methylencchlorid, Aether, Methanol aus *Lytta vesicatoria* L. zeigten, dass diese grösstenteils Aminosäuren und vermutlich anorganische Salze enthielten. Die Suche nach den "missing links" wurde deshalb an dieser Stelle abgebrochen.

SCHEMA 4. Uracil



Die Resultate zu den Untersuchungen über die Inhaltsstoffe in *Lytta vesicatoria* L. sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

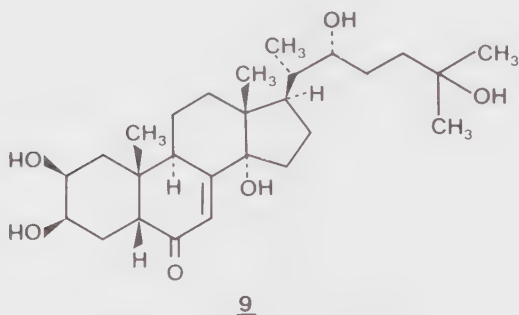
TABELLE 3. Inhaltsstoffe von *Lytta vesicatoria* L.

Verbindung	Charakterisierung	% des Trockengewichtes der Käfer
Kohlenwasserstoffe:		total 0,27
Undecan	GC., GC. /MS.	
Dodecan	GC., GC. /MS.	
Tridecan	GC., GC. /MS.	
Tetradecan	GC., GC. /MS.	
Pentadecan	GC., GC. /MS.	
Hexadecan	GC., GC. /MS.	
Heptadecan	GC., GC. /MS.	
Heptadecen	GC. /MS.	
Heptadecadien	GC. /MS.	
Heptadecatrien	GC. /MS.	
Octadecan	GC., GC. /MS.	
Nonadecan	GC., GC. /MS.	
Eicosan	GC., GC. /MS.	
Heneicosan	GC., GC. /MS.	
Fettsäuremethylester:		total 5,5
Laurin-	GC. /MS.	
Myristin-	GC., GC. /MS.	
Palmitolein-	GC. /MS.	
Palmitin-	GC., GC. /MS.	
Linol-	GC., GC. /MS.	
Linolen-	GC. /MS.	
Oel-	GC., GC. /MS.	
Stearin-	GC. /MS.	
Cholesterin	IR., Smp., MS. Benzoat	0,02
Uracil	UV., IR., MS.	ca. 0,08
Glycerin	IR., ¹ H-NMR.	ca. 0,16
Cantharidin	GC., Smp.	ca. 0,4

4. EXPERIMENTE ZUR BIOSYNTHESE VON CHOLESTERIN IN *LYTTA VESICATORIA* L.

Wie aus dem vorhergehenden Abschnitt hervorgeht, enthalten die Käfer *Lytta vesicatoria* L. Cholesterin (7) als Inhaltsstoff. Es ist in einigen Fällen sicher- gestellt, dass Insekten unfähig sind, ihre lebenswichtigen Steroide z. B. das α -Ecdyson (9) (Schema 5) aus Acetat bzw. Mevalonat (2) zu synthetisieren. So haben Clark & Bloch nach Applikation von 1- ^{14}C -Acetat an Larven des Käfers *Dermestes vulpinus* Fabr. keine radioaktiv markierten Steroide aus den Larven isolieren können [16] . Ebenso bauen die Larven der Schmeissfliege *Calli- phora erythrocephala* 2- ^{14}C -Acetat nicht in Cholesterin (7) ein [17] .

SCHEMA 5. α -Ecdyson (9)



Da *Lytta vesicatoria* L. Farnesol (3) aus Mevalonsäure (2) synthetisieren kann [3, 14] , schien es interessant zu untersuchen, ob diese Insekten fähig sind, auch ihre Steroide zu synthetisieren.

2-(^3H , ^{14}C)-Mevalonat (2-(^3H , ^{14}C)-2) wurde als Vorläufer an *Lytta vesicatoria* L. appliziert und die Insekten nach 3 bis 13 Tagen getötet und auf Cholesterin (7) aufgearbeitet. Dieses wurde in das Benzoat überführt und durch Umkristallisa- tion bis zur konstanten Radioaktivität gereinigt.

Die Resultate der drei Experimente sind in Tabelle 4 zusammengefasst. In allen drei Fällen sind die Einbauraten im Vergleich zu Cantharidin (3 - 5 %) sehr klein. Beim Experiment 4. 2. 1. wurde das Cholesterinbenzoat wieder hydrolysiert und das gebildete Cholesterin (7) durch Oppenauer-Oxydation [18]

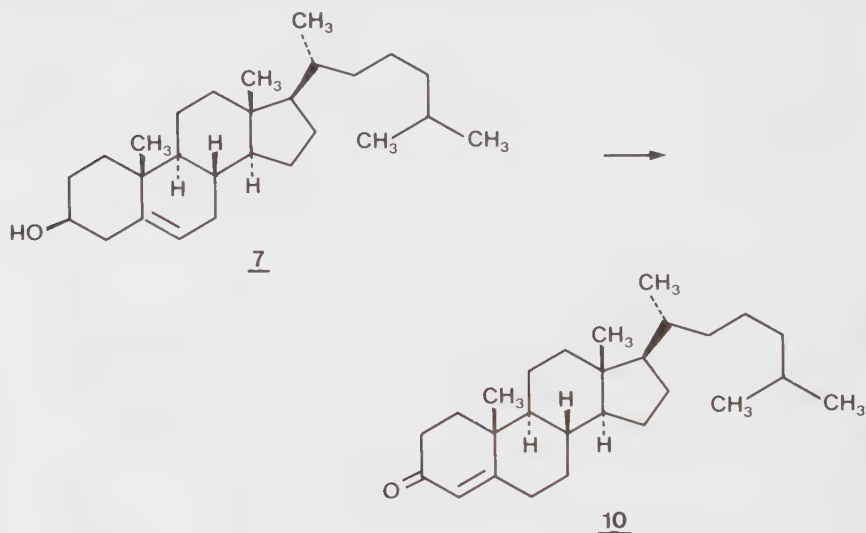
TABELLE 4. Einbauversuche mit 2-(³H, ¹⁴C)-Mevalonat (2-(³H, ¹⁴C)-2) in Cholesterin (7) durch *Lytta vesicatoria* L.

Experiment	³ H/ ¹⁴ C- Verhältnis im Vorläufer	Isotop	Total isolierte Aktivität dpm	Totalaktivität im dpm Cholesterinbenzoat	³ H/ ¹⁴ C- Verhältnis	Einbaurrate ^{a)} %
4. 5. 1.	5,69 ± 0,05	³ H ¹⁴ C	8,39 · 10 ⁸	1,93 · 10 ⁴	4,54	0,0014
			1,55 · 10 ⁸	2,63 · 10 ³		0,0017
4. 5. 2.	4,75 ± 0,01	³ H ¹⁴ C	3,94 · 10 ⁸	8,64 · 10 ³	3,55	0,0022
			9,54 · 10 ⁷	2,43 · 10 ³		0,0026
4. 5. 3.		³ H ¹⁴ C	1,28 · 10 ⁷	2,40 · 10 ³	0,80	0,019
			3,99 · 10 ⁶	2,99 · 10 ³		

a) bezogen auf total aus den Käfern isolierte Aktivität (Pentanphase siehe experimenteller Teil).

in ein Δ^4 -Cholestenon (10) (Schema 6) mit gleicher molarer Aktivität überführt. Dieses Experiment konnte jedoch nicht reproduziert werden. Zusammen mit der Tatsache, dass die Einbauraten sehr klein sind und das $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Verhältnis des Vorläufers im Cholesterin (7) nicht erhalten bleibt - was zu erwarten wäre - kann gesagt werden, dass offensichtlich das Enzymsystem zur Synthese von Sesquiterpenen vorhanden ist, aber die zur Umwandlung von Farnesylpyrophosphat (3-PP) in Cholesterin (7) notwendigen Enzyme fehlen.

SCHEMA 6. Oppenauer-Oxydation von Cholesterin (7) zu Δ^4 -Cholestenon (10)

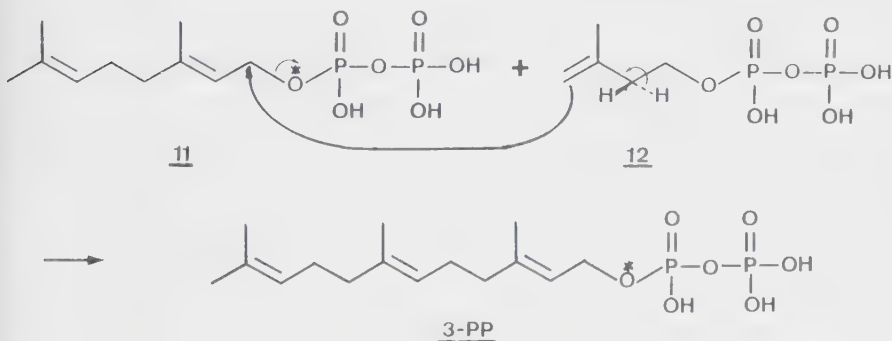


5. VERSUCHE ZUR SYNTHESE DES 4,8,12-TRIMETHYL-3,7,11-TRIDE- CATRIEN-PHOSPHONOPHOSPHATES (8)

vgl. Schema 8

Pyrophosphate sind wichtige Zwischenstufen in der Biosynthese von Terpenen, wobei der Pyrophosphatrest z. B. als Weggangsgruppe bei C, C-Verknüpfungsreaktionen dient. In Schema 7 ist dies am Beispiel von Farnesylpyrophosphat (3-PP) aus Geranylpyrophosphat (11) und Isopentenylpyrophosphat (12) gezeigt.

SCHEMA 7. Kopf-Schwanz-Verknüpfung von Geranylpyrophosphat (11) mit Isopentenylpyrophosphat (12)



Analoga von Pyrophosphaten, bei denen das Carbinol-O-Atom (O*) durch eine CH₂-Gruppe ersetzt wurde, sollten demnach keine solchen C, C-Verknüpfungsreaktionen eingehen, da die Eigenschaft einer guten Abgangsgruppe verloren gegangen ist. Von solchen Verbindungen wird erwartet, dass sie in der Lage sind, Enzyme, welche solche C, C-Verknüpfungsreaktionen katalysieren, wirksam zu blockieren.

Corey & Volante [13] haben die Synthese solcher Analoga beschrieben und ihre Anwendung als wirksame Konkurrenten für natürliche Terpenpyrophosphate am Rezeptorsystem isolierter Enzyme nachgewiesen.

Zur Synthese des für die Umwandlung von Farnesol (3) in Cantharidin (1) relevanten Enzyminhibitors Homofarnesylphosphonophosphat (8) wurde versucht, dem Syntheschema von Corey & Volante [13] zu folgen (Schema 8): Ausgehend von Farnesol (3) (2E, 6E/2E, 6Z 64 : 36, GC.- Analyse)⁶⁾ gelangte man durch Umsetzung mit N-Bromsuccinimid und Dimethylsulfid bei -20° in Methylenchlorid in über 80 % Ausbeute zum Farnesylbromid (13). Dieses wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt. Die Umsetzung von 13 mit Lithiomethyl-phosphonsäure-dimethylester (LMPD) (Darstellung durch Umsetzung von Methyl-phosphonsäure-dimethylester mit n-Butyllithium) bereitete einige Schwierigkeiten. Wurde die Reaktion unter den angegebenen Bedingungen [13] durchgeführt, konnte kein Produkt 14 erhalten werden. Eine erhebliche Konkurrenzreaktion dürfte die Elimination von HBr sein, was durch die Beobachtung, dass Nebenprodukte mit starker UV.-Absorption im DC. entstehen, bestätigt wird. Durch Variation der Reaktionsbedingungen wurde versucht, das gewünschte Produkt 14 zu erhalten und die Ausbeute zu verbessern. Die Versuche sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Daraus kann entnommen werden, dass die besten Resultate bei einer Reaktionstemperatur $\leq -20^{\circ}$ erhalten wurden, wobei es sich als wichtig erwies, das Alkylbromid 13 möglichst langsam in die Lösung des LMPD tropfen zu lassen. Weder durch Verwendung des Tosylates 13a [19] noch durch Variation des Lösungsmittels gelang es, Einfluss auf die Ausbeute an 14 zu nehmen; die Suche nach optimalen Reaktionsbedingungen wurde durch schlechte Reproduzierbarkeit erschwert.

Der Homofarnesyl-phosphonsäure-dimethylester (14) zeigte im IR.-Spektrum die typischen P-O-Absorptionen bei 1248, 1068 und 1042 cm^{-1} . Im ^1H -NMR.-Spektrum erkennt man eine Kopplung der Protonen der beiden Phosphonatomethylgruppen mit dem Phosphor von 11 Hz. Die Kopplung der Methylenprotonen an C(1) mit dem Phosphor ist nicht erkennbar, da das Signal von den Absorptionen der anderen Methylen- und Methylprotonen verdeckt wird⁷⁾.

6) Wir danken Herrn Dr. G. Fräter, Socar AG, Dübendorf, für die Ueberlassung von 10 g dieses Farnesols.

7) MS.-Spektren der Phosphorverbindungen waren in unserem Hause nicht erhältlich.

SCHEMA 8. Synthèse des Homofarnesylphosphonophosphates (8)

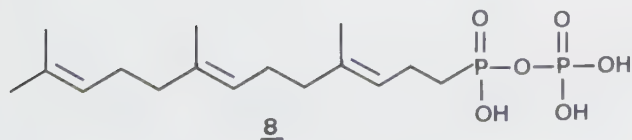
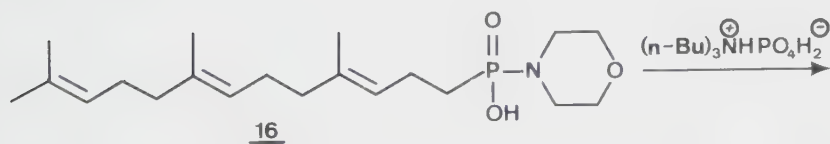
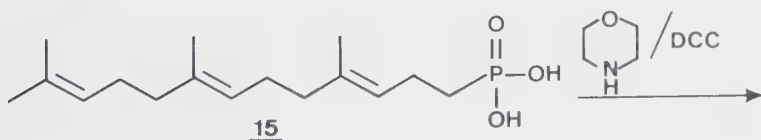
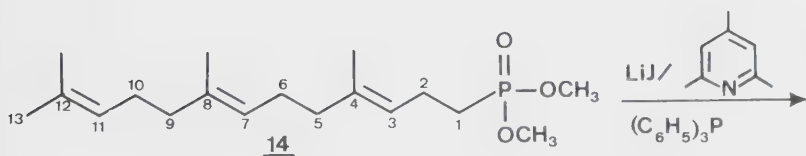
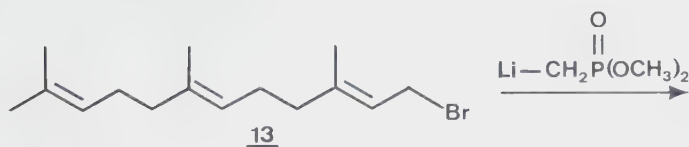
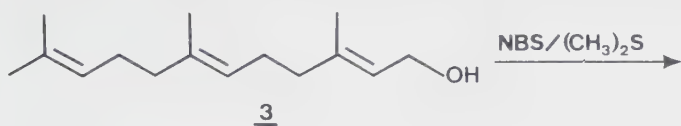
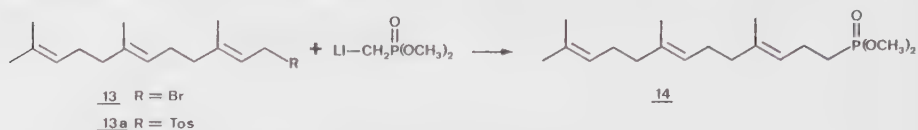


TABELLE 5. Optimierungsversuche der Reaktion 13 $\rightarrow$ 14



R	Lsm.	Reakt. dauer	Reakt. temp.	Ausbeute %
Br	THF	2 ³ / ₄ Std.	-78°	0
Br	THF	5 Std. $\rightarrow$ über Nacht	-78° $\rightarrow$ RT.	0
Br	HMPT/ THF	über Nacht	-78° $\rightarrow$ RT.	6
Tos	HMPT/ THF	über Nacht	-78° $\rightarrow$ RT.	6, 6 - 10 ^{a)}
Br ^{b)}	HMPT/ THF	2 Std.	-78° $\rightarrow$ RT.	0
Tos ^{b)}	HMPT/ THF	0, 5 Std.	0°	8, 2 ^{c)a)}
Tos ^{b)}	HMPT/ THF	über Nacht	-78° $\rightarrow$ RT.	7, 6 ^{c)a)}
Br	THF	2 Std. zutropfen $\rightarrow$ über Nacht	-78° $\rightarrow$ -20°	42, 7

a) bezogen auf eingesetztes Farnesol (3).

b) inverse Zugabe = Zugabe des LMPD zu 13 oder 13a.

c) Rohausbeute

Die anschliessende Hydrolyse des Dimethylesters 14 zur freien Säure 15 bereitete ebenfalls grosse Schwierigkeiten. Einige der zahlreichen Versuche sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Die Hydrolyse nur einer Esterfunktion zum Monoester 15a verläuft relativ glatt unter basischen Bedingungen, Versuche, die zweite Esterfunktion durch extrem basische Bedingungen zu verseifen, schlugen jedoch fehl. Wurden Bedingungen nach Michaelis-Arbusov zur Ent-

TABELLE 6. Optimierungsversuche der Reaktion 14 $\longrightarrow$ 15



Base oder Nucleophil	Lsm.	Reakt. temp.	Reakt. dauer	<u>14</u>	<u>15</u>	<u>15a</u>
Na_2CO_3	$\text{H}_2\text{O}/\text{Dioxan}$	90°	1, 5 Std.	74 %	-	-
NaJ	abs. Methyl- äthylketon	$100^{\text{oa)}$	2 Std.	0	0	0
5proz. KOH	$\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$	Rückfluss	3 Std.	0	0	80-90 % ^{b)}
35proz. KOH	$\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 3 : 1	Rückfluss	3 Tage	0	+	+
KF/18-Crown-6	CH_3CN	Rückfluss	15 Std.	100 %	0	0
$\text{LiJ}[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}]$	2, 4, 6-Collidin	170°	1, 5 Std.	-	93 % ^{b)}	0

a) Bombenrohr

b) Rohausbeute

fernung der zweiten Estergruppe gewählt, so konnte in den meisten Fällen weder 15 noch Edukt 14 oder 15a isoliert werden. Vermutlich reagierten Spuren von Jod aus der Zersetzung der Jodide mit den Doppelbindungen in 14 oder 15, was zu Produktgemischen führte. Dies konnte durch Zusatz geringer Mengen Triphenylphosphin zum Reaktionsgemisch verhindert werden. Allerdings konnte dieses nachträglich nur schwer aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden. Die Phosphonsäure 15 wurde deshalb meist ohne weitere Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt. Als geeignetes Halogenid erwies sich wasserfreies Lithiumjodid, welches in abs. 2,4,6-Collidin mit dem Dimethylester 14 umgesetzt wurde, Bedingungen wie sie von Nagata et al. [20] zur Spaltung sterisch stark gehinderter Carbonsäureester verwendet wurden. Zur Charakterisierung der resultierenden Phosphonsäure 15 dienten vor allem das IR. - und ^1H -NMR. -Spektrum. Ersteres zeigt P=O-Absorptionen bei 1170 und 1120 cm^{-1} , sowie P-O-H bei 995 cm^{-1} , letzteres ist charakterisiert durch die Abwesenheit der Esterabsorptionen bei 3,75 ppm und durch ein breites Signal bei 10,22 - 9,20 ppm, welches den beiden OH-Protonen zugeschrieben werden kann.

Umsetzung der Phosphonsäure 15 mit Morpholin, Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in wässrigem tert. -Butylalkohol [21] lieferte das Morpholidat 16, welches wegen seiner Hydrolyseempfindlichkeit nicht weiter gereinigt wurde. Das Phosphorsäurereagens, womit der Phosphatrest eingeführt werden sollte, wurde durch Mischen von Phosphorsäure und Tri-n-butylamin in Pyridin dargestellt. Diese Lösung des Tri-n-butylammoniumphosphates wurde zum Morpholidat 16 gegeben und 2 Tage bei RT. gerührt. Es entstand ein komplexes Gemisch verschiedener Produkte, welche sich wegen ihrer grossen Polarität nur schwer trennen liessen. Chromatographie an Kieselgel (Propanol/ NH_3 / H_2O 3 : 1 : 1) und anschliessende Filtration durch Sephadex zur Abtrennung des eluierten Kieselgels lieferte 42 mg eines Produktes, welches im ^1H -NMR. -Spektrum die zu erwartenden Vinyl-, Methylen- und Methylsignale zeigte. Ein ^{31}P -NMR. -Spektrum in D_2O ⁸⁾ zeigte, dass es sich bei der isolierten Verbindung um ein Gemisch handelte, welches nebst der gewünschten Verbindung 8 noch anorganisches Phosphat und eine dritte unbekannte Substanz enthielt.

8) Wir danken Herrn Dr. T. Winkler, Ciba-Geigy AG, Basel, für ein ^{31}P -NMR. -Spektrum (32,38 MHz, D_2O).

Für die biochemischen Experimente, welche mit der Verbindung 8 durchgeführt werden wollten, standen keine männlichen *Lytta vesicatoria* L. mehr zur Verfügung. Die Synthese von 8 war erst beendet, nachdem alle männlichen *Lytta vesicatoria* L., die wir im Mai von Sizilien geholt hatten, verendet waren. Bis jetzt ist es nicht gelungen, *Lytta vesicatoria* L. erfolgreich im Laboratorium zu züchten, sodass wir das folgende Jahr abwarten mussten, um neue lebende Käfer in Sizilien zu holen. Da die Verbindung 8 jedoch nur einige Wochen haltbar war, musste auf diese Experimente verzichtet werden.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Bemerkungen

Falls nicht anders angegeben gelten:

Bestimmung der Smp. auf Mettler-FP/2-Gerät.

UV.-Spektren (Unicam SP 800) in 99,5proz. Äthanol; Angaben von $\lambda_{\max}$ in nm ($\log \epsilon$).

IR.-Spektren (Perkin-Elmer 21) in CHCl_3 ; Angaben in cm^{-1} , Sch = Schulter.

^1H -NMR.-Spektren (Varian HA 100, Varian T 60); chemische Verschiebungen (Bereiche oder Signalzentren) in ppm relativ zu Tetramethylsilan als internem Standard = 0; s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, qa = Quadruplett, m = Multiplett, br. = breit; Kopplungskonstanten J in Hz.

Massenspektren (MS.) (CEC-21-110B oder Varian MAT 711) bei 70 eV, Direkt-einlass; Angaben in m/e (rel. %).

Kombination Gas-Chromatograph-Massenspektrometer (GC./MS.) auf Varian-Mat, Modell CH 5 bei 70 eV (Separator-Temperatur 250° , Ionenquellentemperatur 200° , direkte Kopplung mit Glaskapillarkolonnen UCON HB 5100 (50 m x 0,31 mm) oder SE-52 (18 m x 0,28 mm) unter Verwendung des Platin-Interface nach Neuner-Jehle et al. [22]).

Analytische Gas-Chromatogramme (GC.) an C. Erba-Geräten Fractovap GI (FID) unter Verwendung folgender Glaskapillarkolonnen nach Grob [23] : SE-52 (18 m x 0,28 mm), XE-60 (17 m x 0,34 mm), XF-1105 (20 m x 0,32 mm); Trägergas: Wasserstoff. Quantitative Auswertungen erfolgten mit einem elektronischen Integrator (Infotronics CRS-101); die angegebenen Werte stellen Mittel aus mindestens drei Chromatogrammen dar.

Analytische Dünnschichtchromatogramme (DC.) an Kieselgel HF_{254} (Merck); Sprühreagenzien: 1proz. sodaalkalische KMnO_4 -Lösung, 0,04proz. äthanolische Bromkresolgrün-Lösung (mit 0,10 N NaOH auf Umschlagspunkt eingestellt), 0,2proz. äthanolische Lösung von Ninhydrin, konz. H_2SO_4 /Methanol 1 : 1 (Cholesterin).

Präparative Dünnschichtchromatographie (präp. DC.) an Kieselgel PF_{254} (Merck).

Säulenchromatographie an Kieselgel Merck 0,063 - 0,200 mm; Angabe von Elutionsmittelgemischen in Volumenprozenten.

Abdampfoperationen im RV. bei 14 Torr.

Destillation kleiner Substanzmengen im Kugelrohr bei den angegebenen Drucken und Luftbadtemperaturen.

Radioaktivitätsmessungen in einem Flüssigkeitsscintillationszähler, Modell TRI-Carb (Packard Instruments Co.). Scintillations-Lösung aus 4,0 g PPO (2,5-Diphenyl-oxazol) und 100 mg POPOP (1,4-Bis-(4-methyl-5-phenyl-oxazol-2-yl)-benzol) in 1000 ml reinem Toluol.

^3H - und ^{14}C - doppelmarkierte Proben wurden nach Frohofer [24] zu Wasser und Kohlendioxid verbrannt und diese ausgezählt. Zählausbeute für ^3H : 26 % und für ^{14}C : 75 %. Die Proben wurden auf einen Standardfehler von 0,5 - 2,0 % ausgezählt (Vertrauensgrenze: 95 %). Geschätzte Reproduzierbarkeit der Methode ± 5 %; bei Zählraten unter 50 ipm: ± 10 %.

2- ^{14}C -Mevalonat wurde von Dr. J. Würsch, Hoffmann-LaRoche AG, Basel bezogen.

2- ^3H -Mevalonat stammte von Amersham, The Radiochemical Centre, Buckinghamshire, England.

1. EXTRAKTIONEN VON LYTTA VESICATORIA L.

Die bei 0,01 Torr bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Käfer wurden in einer Mühle pulverisiert, das Pulver in einen Soxhlet transferiert und 2 Tage erschöpfend mit Pentan extrahiert. Dasselbe Pulver war anschliessend mit Aether, Methylenchlorid, Aceton und Methanol auf dieselbe Art behandelt worden. Alle Extraktionen erfolgten mit Lösungsmitteln Merck zur Rückstandsanalyse. Die Papierhüllen für den Soxhlet-Extraktor waren mit demselben Lösungsmittel vorextrahiert worden.

2. UNTERSUCHUNG DES PENTANEXTRAKTES AUS LYTTA VESICATORIA L.

vgl. Schema 3

Der Pentanextrakt aus 228 g Käferpulver ergab nach dem Eindampfen 37,3 g zähflüssiges Oel, das in 300 ml Methanol aufgenommen und mit 125 ml 2 N KOH versetzt über Nacht stehen gelassen wurde. Anschliessend stellte man mit K_2CO_3 auf pH 8, engte am RV. ein, verdünnte mit dem 4fachen Volumen Wasser und extrahierte 6mal mit Aether. Die Aetherphase (A1) enthielt die unverseiften Substanzen und die Wasserphase (W1) die Säuren. A1 wurde eingedampft und W1 mit verd. H_2SO_4 auf pH 3 gestellt, 4mal mit Aether extrahiert und ebenfalls eingedampft (A2).

2.1. Auftrennung der unverseiften Substanzen (A1)

Die 18 g unverseiftes Oel wurden zwischen Hexan und Methanol/Wasser 19 : 1 verteilt (Hexanphase = H1, Methanol/Wasserphase = M1). H1 wurde eingedampft und der Rückstand an einer kurzen Säule chromatographiert (10 g Kieselgel, zunächst Pentan/Aether 9 : 1, dann Aether, dann Chloroform). Es wurden zwei Fraktionen aufgefangen. Fraktion 1 (9,0 g) enthielt die unpolaren, Fraktion 2 (1,6 g) die stärker polaren Verbindungen.

2.1.1. Isolierung der Kohlenwasserstoffe

Fraktion 1 enthielt nach IR. noch Ester und wurde deshalb nachverseift: 9,0 g Oel wurden mit 100 ml 5proz. methanolischer KOH versetzt und 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Darauf wurde bis zur Trockne eingedampft, in 500 ml Wasser aufgenommen und 5mal mit Aether extrahiert. Der Rückstand enthielt nach dem Eindampfen 3,0 g unverseifbare Substanzen. Diese wurden säulen-chromatographisch (180 g Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1, dann Aether) weiter aufgetrennt. Es wurden Fraktionen von 100 ml aufgefangen. Die ersten vier Fraktionen wurden zusammengefasst (1,17 g) und durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) weiter aufgetrennt. Die am schnellsten wandernde Zone enthielt 452,6 mg Kohlenwasserstoffe. Durch Gas-Chromatographie-Vergleich mit authentischen Substanzen an zwei verschiedenen Kolonnen (SE-52 und XF-1105) und durch GC./MS.-Kopplung konnten folgende Verbindungen

identifiziert werden: Undecan, Dodecan, Tridecan, Tetradecan, Pentadecan, Hexadecan, Heptadecan, Octadecan, Nonadecan, Eicosan, Heneicosan, Heptadecen, Heptadecadien, Heptadecatrien.

2.1.2. Isolierung des Cholesterins (7)

Fraktion 2 von H1 (1,6 g) wurde an einer Säule weiter aufgetrennt (50 g Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1, dann Aether). Es wurden drei Fraktionen gesammelt, wobei Fraktion 3 (109 mg) nach DC. Cholesterin enthielt. Nach erneuter präp. DC. an Kieselgel (Pentan/Aether 1 : 1) erhielt man 45 mg Cholesterin vom Smp. 143 - 145° (aus Pentan) (148,5°, H₂O-frei [25]).

-IR. (KBr): 3410, 2935, 2870, 1468, 1380, 1370, 1060, 1025, 955, 960, 840, 800. - MS.: 386 (M⁺, 100), 368(30), 353(22), 329(5), 301(17), 275(44), 255(16), 247(9), 231(11), 213(18), 178(8), 173(8), 163(12), 161(16), 159(17), 145(25), 107(36), 105(24), 95(35), 93(24), 91(22), 81(33), 79(22), 69(28), 67(21), 57(37), 55(52).

Cholesterinbenzoat: 45 mg (0,117 mmol) Cholesterin wurden in 5 ml abs. Pyridin gelöst, mit 200 mg (1,429 mmol) frisch destilliertem Benzoylchlorid versetzt und 10 Min. auf 70° erhitzt. Danach wurde das Reaktionsgemisch in 10 ml Eiswasser gegossen, mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und mehrmals mit Aether extrahiert. Die vereinigten Aetherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde an einer Säule chromatographiert (100 g Kieselgel, Pentan/Aether 9 : 1). Fraktion 1 enthielt das Cholesterinbenzoat, welches aus Aethanol/Aether umkristallisiert wurde: 45,68 mg (80 %). - Smp. 146,6° (152 - 153° [25]). - IR.: 2940, 2870, 1710, 1278, 1120. - MS.: 490 (M⁺, <1), 396(17), 368(100), 353(23), 260(30), 255(27), 247(29), 213(18), 159(21), 147(60), 145(43), 135(19), 133(24), 131(20), 121(23), 119(22), 109(22), 107(30), 105(100), 95(36), 93(27), 91(30), 83(19), 81(53), 79(25), 77(33), 71(23), 69(28), 67(26), 57(38), 55(34).

2.2. Untersuchung der Säuren (A2)

Von dem Rückstand von 26,1 g wurden ca. 950 mg mit Diazomethan verestert. Die entstandenen Methylester analysierte man im GC./MS. Folgende Verbindungen konnten charakterisiert werden: Laurinsäuremethylester, Myristinsäuremethylester, einfach ungesättigter C₁₆-Carbonsäuremethylester, Palmitinsäure-

methylester, Linolsäuremethylester, Oelsäuremethylester, 3fach ungesättigter C_{18} -Carbonsäuremethylester, Stearinsäuremethylester. Mit authentischen Substanzen waren direkt verglichen worden (GC.): Myristinsäuremethylester, Linolsäuremethylester, Oelsäuremethylester.

2.3. Isolierung der Fettsäuremethylester

225 g Käferpulver waren wie unter 1. angegeben mit Pentan extrahiert worden. Der Extrakt (54,5 g) wurde in 100 ml Pentan aufgenommen und der pentanunlösliche Teil abdekantiert. Vom pentanlöslichen Teil (32,0 g) wurden 9,3 g an einer Säule chromatographiert (530 g Kieselgel, Pentan/Aether 9 : 1). Es wurden Fraktionen à 10 ml aufgefangen. Die ersten 70 Fraktionen enthielten die schon bekannten Kohlenwasserstoffe, vgl. Versuch 2.1.1., Fraktionen 71 - 180 enthielten Fettsäuremethylester, welche wie unter 2.2. beschrieben charakterisiert wurden und mit denselben identisch waren. Durch GC.-Analyse wurde festgestellt, dass 39 % des pentanlöslichen Teils aus Fettsäuremethylestern bestand; das sind 23 % des gesamten Pentanextraktes. Die Mischung der Methylester setzte sich wie folgt zusammen (GC.-Analyse, interner Standard Eicosan): Myristinsäuremethylester 1,2 %, einfach ungesättigter C_{16} -Carbonsäuremethylester 6,1 %, Palmitinsäuremethylester 37,8 %, Linolsäuremethylester 12,4 %, 3fach ungesättigter C_{18} -Carbonsäuremethylester und Oelsäuremethylester zusammen 38,9 %, Stearinsäuremethylester 3,6 %.

3. UNTERSUCHUNG DES AETHEREXTRAKTES AUS *LYTTA VESICATORIA* L.

228 g Käferpulver lieferten (nachdem wie unter 1. angegeben zuerst mit Pentan extrahiert worden war) nach Extraktion mit Aether 3,6 g eines Substanzgemisches, das säulenchromatographisch aufgetrennt wurde (80 g Kieselgel, Chloroform/Methanol/Ammoniak 8 : 2 : 1). Es wurden Fraktionen von 10 ml aufgefangen. Aus den einzelnen Fraktionen konnten die nachfolgend aufgeführten Verbindungen isoliert werden.

3.1. Isolierung von Uracil (Schema 4)

Aus den Fraktionen 24 - 40 konnte nach dem Eindampfen ein Festkörper isoliert und bei $220 - 230^{\circ}/0,01$ Torr sublimiert werden. - UV.: 212 (3,70), 258 (3,91). - IR. (KBr): 3420, 3220Sch, 3110, 2935, 1770Sch, 1740, 1720, 1675, 1510, 1455, 1420, 1392, 1238, 1008, 994, 855, 821, 760. - ^1H -NMR. (60 MHz, d_6 -DMSO): 10,85 (br. s, 2 -OH, Signal verschwindet bei Zugabe von D_2O); 7,37 (d, $J=8$, H-C(6)); 5,44 (d, $J=8$, H-C(5)). - MS.: 112 (M^{+} , 100), 69(59), 42(33).

3.2. Isolierung von Glycerin

Fraktionen 41 - 46 wurden zusammengefasst, eingedampft und durch präp. DC. (Kieselgel, Butanol/Wasser/Eisessig 40 : 5 : 1) weiter aufgetrennt. Drei Zonen wurden erhalten, wobei die mittlere Zone Glycerin enthielt, welches durch Destillation bei $100 - 120^{\circ}/0,01$ Torr gereinigt wurde. - IR. (Film): 3340, 2940, 2880, 1660, 1460Sch, 1410, 1112, 1043, 995, 925, 855. - ^1H -NMR. (60 MHz, d_4 -Methanol): 4,80 (s, 3 -OH); 3,60 (br. s, 5H, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}-$).

4. EXPERIMENTE ZUR BIOSYNTHESE VON CHOLESTERIN (7) IN *LYTTA VESICATORIA* L.

4.1. Insekten

Für die Einbauversuche wurden männliche *Lytta vesicatoria* L. (gesammelt bei Bisaquino, Provinz Palermo, Sizilien) verwendet.

4.2. Applikationstechnik

Die wässrige Lösung des 2-(^3H , ^{14}C)-Mevalonats (2-(^3H , ^{14}C)-2) injiziert man zwischen dem 3. und 4. Abdominalsegment der mit Kohlendioxid narkotisierten Insekten mittels einer fein ausgezogenen Schmelzpunktskapillare. Die Insekten erholten sich rasch nach der Narkose, wurden während der Dauer des Experimentes in mit Gaze bedeckten Kristallisierschalen gehalten und mit Eschen-

blättern, *Fraxinus excelsior* L., gefüttert. Beim Abbruch der Versuche wurden die Insekten durch schnelles Einfrieren auf -20° getötet und bei dieser Temperatur aufbewahrt.

4.3. Aufarbeitung der Insekten

Die Insekten wurden sowohl auf Cholesterin (7) wie auch auf Cantharidin (1) aufgearbeitet. Dazu wurden sie in einer Achatschale gemörsert, in 2 N Salzsäure aufgenommen und 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Die wässrige Lösung mit den Insekten wurde anschliessend 40 Std. mit Methylenchlorid extrahiert. Methylenchlorid wurde eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Pentan ausgezogen (P1). Der in Pentan unlösliche Rückstand wurde mit 2 N KOH versetzt und erwärmt, bis sich alles gelöst hatte. Darauf wurde 5mal mit Methylenchlorid extrahiert und die wässrige Phase mit 6 N Salzsäure auf pH 3 gebracht und 2 Std. bei RT. stehen gelassen. Danach wurde wiederum 5mal mit Methylenchlorid extrahiert, die Methylenchloridphasen über MgSO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand lieferte Rohcantharidin.

Zur Isolierung des Cholesterins wurde die Pentanphase (P1) eingedampft, mit inaktivem Cholesterin verdünnt und der präp. DC. unterworfen (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1). Das isolierte Cholesterin wurde durch Ueberführen ins Cholesterinbenzoat und Δ^4 -Cholestenon weiter gereinigt, s. unten.

4.4. Inaktive Vorversuche zur Darstellung der Derivate von Cholesterin (7)

4.4.1. Cholesterinbenzoat

100 mg (0,258 mmol) Cholesterin (7) wurden in 6 ml abs. Pyridin gelöst und 1,614 g (11,5 mmol) frisch destilliertes Benzoylchlorid zugetropft. Die Mischung wurde 10 Min. auf 70° erhitzt, danach auf Eiswasser gegossen, mit konz. Salzsäure angesäuert und mehrmals mit Aether extrahiert. Die Aetherphasen wurden getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 9 : 1) und Umkristallisieren (Aether/Aethanol) gereinigt: 93,0 mg (0,19 mmol, 74 %) . IR.- und MS.-Spektren waren identisch mit denjenigen des Produktes, welches unter 2.1.2. beschrieben wurde.

4.4.2. Δ^4 -Cholestenon (10)

55,2 mg (0,143 mmol) Cholesterin (7) wurden in 15 ml abs. Toluol gelöst, mit 0,15 ml (1,45 mmol) Cyclohexanon und Molekularsieb 4 Å versetzt. Die Lösung wurde auf 112° erhitzt und 0,7 ml einer Lösung von Aluminiumisopropylat in abs. Toluol (113,6 mg in 5 ml) zugetropft. Es wurde 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionsmischung mit einer gesättigten wässrigen Lösung von Seignettesalz versetzt und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Die weitere Reinigung erfolgte durch präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) und Umkristallisation lieferte 46 mg (0,120 mmol, 84 %) 10. - Smp. 80,0 - 80,7° (80 - 81° [25]). - IR.: 2940, 2865, 1660, 1612, 1468, 1375. - MS.: 384 (M^+ , 42), 342(14), 271(13), 261(47), 260(17), 230(11), 229(36), 149(19), 148(14), 147(24), 137(13), 135(23), 134(12), 133(15), 125(14), 124(100), 123(19), 122(13), 121(21), 119(16), 109(21), 107(27), 105(23), 95(35), 94(10), 93(26), 91(25), 83(13), 81(31), 79(32), 77(13), 71(14), 69(27), 67(27), 57(35), 55(58), 43(71), 41(57).

4.4.3. Hydrolyse des Cholesterinbenzoates zu Cholesterin (7)

12,5 mg (0,026 mmol) Cholesterinbenzoat wurden in 10 ml 5proz. äthanolischer KOH und 10 ml Aether gelöst und 30 Min. unter Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde darauf eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und mehrmals mit Aether extrahiert. Die Aetherphasen wurden getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingedampft und lieferten 10 mg (100 %) DC.-reines Produkt 7.

4.5. Einbauversuche in *Lytta vesicatoria* L.

4.5.1. Einbauversuch mit 2-(^3H , ^{14}C)-Natriummevalonat (1974)

100 männliche *Lytta vesicatoria* L. wurden wie unter 4.2. beschrieben injiziert und 65 Std. am Leben gelassen. Die Aufarbeitung der Insekten auf Cholesterin (7) erfolgte wie in 4.3. beschrieben. Dem Rückstand des Pentanextraktes waren 51,30 mg inaktives Cholesterin (7) zugegeben worden. Nach präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) wurde das Cholesterin (7) wie unter 4.4.1. beschrieben in sein Benzoat überführt, welches nach 5maligem Umkristallisieren

(Aether/Aethanol) 6,4 mg von konstanter Radioaktivität ergab. Für die weiteren Umsetzungen (Hydrolyse und Oxydation zum Δ^4 -Cholestenon (10)) wurde nochmals mit 6,1 mg inaktivem Cholesterinbenzoat verdünnt.

Die 12,5 mg (0,026 mmol) Benzoat ergaben nach der Hydrolyse (Versuch 4.4.3.) 10 mg Cholesterin (7) (0,026 mmol), welches mit 0,056 ml (0,546 mmol) Cyclohexanon, 2,86 mg (0,014 mmol) Aluminiumisopropylat in 5 ml abs. Toluol wie unter 4.4.2. beschrieben umgesetzt wurde. Nach präp. DC. (Kieselgel, Pentan/Aether 1 : 1) konnten 7,8 mg (0,020 mmol, 78 %) Δ^4 -Cholestenon (10) isoliert werden, welches nach Destillation (120 - 140°/0,01 Torr) und Umkristallisation (Methanol) 5,5 mg der angegebenen Aktivität ergab. Resultate der Versuche siehe Tabelle 7.

4.5.2. Einbauversuch mit 2-(^3H , ^{14}C)-Natriummevalonat (1975)

122 männliche *Lytta vesicatoria* L. waren injiziert worden und überlebten 13 Tage. Isolierung des Cholesterins (7) wie in 4.3. beschrieben. Es konnten 7,5 mg radioaktives Cholesterin (7) gewonnen werden, welches mit 50,42 mg inaktivem 7 verdünnt und in sein Benzoat überführt wurde (Beschreibung Versuch 4.4.1.). Nach 4maligem Umkristallisieren wurden 37,7 mg Benzoat der angegebenen Aktivität erhalten. Resultate siehe Tabelle 7.

4.5.3. Einbauversuch mit 2-(^3H , ^{14}C)-Natriummevalonat

39 männliche *Lytta vesicatoria* waren injiziert worden. Extraktion der Insekten erfolgte wie in Versuch 4.3. Der radioaktiven Pentanphase waren 58,32 mg inaktives 7 zugegeben worden. Das radioaktive 7 wurde wie unter 4.4.1. beschrieben ins Benzoat überführt. Es konnten 48,93 mg Benzoat der angegebenen Aktivität isoliert werden. Resultate siehe Tabelle 7.

Die radioaktiven Cantharidinpräparate, welche aus denselben Insekten gewonnen wurden, waren für andere Experimente verwendet worden. Resultate siehe [8].

TABELLE 7. Einbauversuche mit 2-(³H, ¹⁴C)-Natriummevalonat (2-(³H, ¹⁴C)-2) als Vorläufer in Cholesterin (7)

Experiment	³ H/ ¹⁴ C-Verhältnis im Vorläufer	Verbindung	Menge mg	Isotop	spez. Aktivität dpm/mg	³ H/ ¹⁴ C-Verhältnis	Molare Aktivität dpm/mmol
4.5.1.	5,69 ± 0,05	Cholesterin	51,3	³ H, ¹⁴ C	1,087 · 10 ⁴ 4,993 · 10 ³	2,18	4,195 · 10 ⁶ 1,927 · 10 ⁶
		Cholesterin-benzoat	6,4	³ H, ¹⁴ C	477 ± 96 105 ± 15	4,54	2,337 · 10 ⁶ 5,145 · 10 ⁴
		Cholesterin-benzoat	6,4	³ H, ¹⁴ C	244 ± 49 ^{a)} 54 ± 8 ^{a)}	4,52	1,196 · 10 ^{5a)} 2,646 · 10 ^{4a)}
		+ inaktives	6,1				
		Cholestenon		³ H, ¹⁴ C	311 ± 62 ^{a)} 69 ± 10 ^{a)}	4,51	1,196 · 10 ^{5a)} 2,646 · 10 ^{4a)}
		Cholestenon	5,5	³ H, ¹⁴ C	341 ± 56 56 ± 6	6,09	1,309 · 10 ⁵ 2,150 · 10 ⁴

TABELLE 7. (Fortsetzung)

Experiment	$^3\text{H}/^{14}\text{C}$ - Verhältnis im Vorläufer	Verbindung	Menge mg	Isotop	spez. Aktivität dpm/mg	$^3\text{H}/^{14}\text{C}$ - Verhältnis	Molare Aktivität dpm/mmol
4.5.2.	4,75 ± 0,01	Cholesterin	7,5	^3H	5,579 · 10 ⁴	3,50	2,153 · 10 ⁷
				^{14}C	1,596 · 10 ⁴		6,161 · 10 ⁶
		Cholesterin + inaktives	7,5 50,42	^3H	7,224 · 10 ^{3a)}	3,49	2,788 · 10 ^{6a)}
				^{14}C	2,067 · 10 ^{3a)}		7,979 · 10 ^{5a)}
4.5.3.		Cholesterin- benzoat	37,7	^3H	135 ± 83	3,55	5,211 · 10 ⁴
				^{14}C	38 ± 14		1,467 · 10 ⁴
		Cholesterin- benzoat	48,93	^3H	49	0,80	1,891 · 10 ⁴
				^{14}C	61		2,354 · 10 ⁴

a) berechnete Werte

5. VERSUCHE ZUR SYNTHESE DES 4,8,12-TRIMETHYL-3,7,11-TRIDECA- TRIEN-PHOSPHONOPHOSPHATES (8)

5.1. Farnesylbromid (13)

5,65 g (31,74 mmol) N-Bromsuccinimid wurden unter Inertgasatmosphäre in 100 ml Methylenchlorid gelöst und auf 0° gekühlt. Darauf wurden 2,77 ml (37,82 mmol) Dimethylsulfid zugetropft und die Lösung auf -20° abgekühlt. Nun wurden der Reaktionsmischung 3,585 g (16,15 mmol) Farnesol (3) (2(E),6(E)/2(E),6(Z) 64 : 36, GC.) in 10 ml Methylenchlorid beigegeben und langsam auf 0° erwärmt. Es wurde 1,5 Std. bei dieser Temperatur belassen und danach aufgearbeitet. Die Reaktionsmischung wurde mit Pentan verdünnt, in 150 ml Eiswasser gegossen, die organische Phase abgetrennt und 2mal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Danach wurde über 2 g Kieselgel filtriert, eingedampft und am HV. getrocknet. Rohausbeute: 3,7 g (83 %) 13. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung für Versuch 5.4. verwendet.

5.2. Farnesyltosylat (13a)

500 mg (2,25 mmol) Farnesol (3) (2(E),6(E)/2(E),6(Z) 64 : 36) wurden in 44 ml Äther und 14 ml Hexamethyl-phosphorsäure-triamid (HMPT) gelöst, mit einer Spatelspitze Triphenylmethan versetzt und mit Methyllithium bis zum Auftreten der Rotfärbung titriert. Darauf wurde auf 0° gekühlt, 470 mg (2,47 mmol) Tosylchlorid zugegeben und 2 Std. bei 0° gerührt. Danach wurden nochmals 470 mg (2,47 mmol) Tosylchlorid zugegeben und weitere 2 Std. bei 0° gerührt. Das Farnesyltosylat (13a) wurde nicht isoliert, sondern diese Lösung wurde in Versuch 5.5. eingesetzt.

5.3. Lithiomethyl-phosphonsäure-dimethylester (LMPD)

686,5 mg (5,37 mmol) Methyl-phosphonsäure-dimethylester (97proz.) wurden in 4 ml abs. Tetrahydrofuran (THF) gelöst und auf -78° gekühlt (Inertgasatmosphäre). Dieser Lösung wurden 3 ml (5,37 mmol) einer 15proz. Lösung von n-Butyllithium in Hexan zugetropft und für 30 Min. bei -78° gerührt. Danach wurde die Reaktionslösung für die Umsetzungen 5.4. und 5.5. verwendet.

5.4. Umsetzung des Farnesylbromids (13) mit LMPD

1,53 g (5,37 mmol) Farnesylbromid (13) wurden in 50 ml THF gelöst und während 2 Std. bei -78° einer Lösung des Lithiomethyl-phosphonsäure-dimethylesters (LMPD) zugetropft, welche wie unter 5.3. beschrieben aus 686,5 mg (5,37 mmol) Methyl-phosphonsäure-dimethylester und 3 ml n-Butyllithium in 4 ml THF dargestellt worden war. Es wurde weiter bei -78° gerührt und über Nacht bei -20° stehen gelassen. Danach wurde die Reaktionsmischung in 50 ml Wasser gegossen, geschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde noch 5mal mit Aether extrahiert, die vereinigten Aetherphasen über MgSO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde durch Chromatographie an 40 g Kieselgel (Aether, dann Aceton) gereinigt. Fraktionen 2 und 3 (Fraktionen à 200 ml) lieferten nach Destillation ($120 - 140^{\circ}/0,01$ Torr) 752 mg (42,5 %) DC.-reines Homofarnesyl-phosphonsäure-dimethylester (14). - IR.: 3390, 3000, 2960, 2920, 2860, 2470, 1670, 1452, 1380, 1248 (P-O), 1068, 1042 (P-O). - $^1\text{H-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): 5,25 - 4,99 (m, 3H, $-\text{C}=\text{CH}-$); 3,75 (d, $\text{J}(\text{CH}_3-\text{O}-\text{P})=11$, $2 \times \text{CH}_3-\text{O}-\text{P}$); 2,54 - 1,58 (m, 24 H, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$).

$\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_3\text{P}$ (328,44)	Ber.	C 65,83	H 10,13	P 9,43 %
	Gef.	C 66,08	H 10,33	P 9,14 %

5.5. Umsetzung des Farnesyltosylates (13a) mit LMPD

Die Lösung des Farnesyltosylates (13a) wurde wie unter 5.2. beschrieben hergestellt; 541,34 mg (2,438 mmol) Farnesol (3) wurden mit insgesamt 1,118 g (5,884 mmol) Tosylchlorid umgesetzt. Diese Lösung wurde zu einer Lösung des LMPD bei -78° zugetropft (Darstellung des LMPD wie unter 5.3. beschrieben; 328,1 mg (2,566 mmol) Methyl-phosphonsäure-dimethylester waren mit n-Butyllithium umgesetzt worden). Die Reaktionsmischung wurde langsam auf RT. gebracht und über Nacht gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie unter 5.4. beschrieben. Nach Chromatographie und Destillation konnten 85,3 mg (10,7 %) 14 isoliert werden.

5.6. 4,8,12-Trimethyl-3,7,11-tridecatrien-phosphonsäure (15)

300 mg (0,915 mmol) Dimethylester 14 wurden zusammen mit 615 mg (4,59 mmol) Lithiumjodid (getrocknet bei 200^o/0,01 Torr) und 299 mg (1,141 mmol) Triphenylphosphin in 50 ml abs. 2,4,6-Collidin gelöst und 1,5 Std. unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde die Reaktionsmischung eingedampft, in wenig Wasser aufgenommen, mit konz. H₂SO₄ angesäuert und mehrmals mit Aether extrahiert. Die Aetherphasen wurden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Nach dem Trocknen am HV. erhielt man 225 mg (93 %) DC.-reines Produkt 15. - IR.: 1435 (P-CH₂-), 1170 (P=O), 1120 (P=O), 995 (P-OH). - ¹H-NMR. (60 MHz, CDCl₃): 10,22 - 9,20 (br. s, 2 P-OH); 5,30 - 4,90 (m, 3H, -C=CH); 2,83 - 1,47 (m, 24 H, -CH₂-, -CH₃).

5.7. 4,8,12-Trimethyl-3,7,11-tridecatrien-phosphonomorpholidat (16)

326 mg (1,086 mmol) Phosphonsäure 15, 378 mg (4,344 mmol) Morpholin und 895 mg (4,344 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) wurden in 10 ml tert.-Butylalkohol und 10 ml Wasser gelöst und 4 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde nach dem Abkühlen in den Kühlschrank gestellt (5^o), der ausgefallene Harnstoff abgenutscht, das Filtrat eingengt und in wenig Wasser aufgenommen. Es wurde mehrmals mit Chloroform extrahiert, die Chloroformphasen über MgSO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand, 354,23 mg (93 %) Rohmorpholidat 16 wurde ohne weitere Reinigung in Versuch 5.8. eingesetzt.

5.8. 4,8,12-Trimethyl-3,7,11-tridecatrien-phosphonophosphat (8)

295 mg (3 mmol) Phosphorsäure und 555 mg (3 mmol) Tri-n-butylamin wurden zusammen in 2 ml abs. Pyridin gelöst. Das Pyridin wurde am HV. abgedampft und der Rückstand in frischem abs. Pyridin gelöst. Dies wurde 3mal wiederholt. Die so zubereitete Lösung des Tri-n-butylammoniumphosphates wurde zu 300 mg (0,862 mmol) Morpholidat 16 gegeben und 2 Tage bei RT. gerührt. Pyridin wurde darauf abgedampft, der Rückstnad in Propanol/NH₃/H₂O 6 : 3 : 1 aufgenommen, der unlösliche Teil abzentrifugiert und die Lösung an

4 präp. DC.-Platten (Propanol/ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ 6 : 3 : 1) chromatographiert. Elution der am langsamsten wandernden Zone mit Propanol/ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ 3 : 1 : 1 und anschliessende Filtration des Rückstandes durch 5 g Sephadex G-10 mit Methanol/Wasser 1 : 1 lieferte 42 mg 8. - ^1H -NMR. (100 MHz, CD_3OD): 5,28 - 4,96 (m, 3H, $-\text{C}=\text{CH}$); 2,40 - 1,50 (m, 24H, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$).

C. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Robiquet, Ann.Chim. 76, 302 (1810).
- [2] M.G. Peter, Dissertation, Universität Zürich, 1973.
- [3] W-D. Woggon, Dissertation, Universität Zürich, 1975.
- [4] Ch. Schlatter, E. E. Waldner & H. Schmid, Experientia 24, 994 (1968).
- [5] D. Meyer, Ch. Schlatter, I. Schlatter-Lanz, H. Schmid & P. Bovey, Experientia 24, 995 (1968).
- [6] Ch. Schlatter, A. Dürsteler-Meyer & H. Schmid, Chimia 22, 498 (1968).
- [7] Ch. Schlatter & A. Dürsteler-Meyer, Chimia 24, 33 (1970).
- [8] J.R. Sierra, Dissertation, Universität Zürich, 1977.
- [9] M.G. Peter, W-D. Woggon, Ch. Schlatter & H. Schmid, Helv. 60, 844 (1977).
- [10] M.G. Peter, H. R. Waespe, W-D. Woggon & H. Schmid, Helv. 60, 1262 (1977).
- [11] W-D. Woggon, M. G. Peter & H. Schmid, Helv. 60, 2288 (1977).
- [12] F. P. W. Winteringham in "Aspects of Insect Biochemistry", Biochemical Society, Symposium No. 25, London 1965, S. 29.
- [13] E. J. Corey & R. P. Volante, J. Amer. chem. Soc. 98, 1291 (1976).
- [14] M.G. Peter, W-D. Woggon & H. Schmid, Helv. 60, 2756 (1977).
- [15] M. M. Janot & P. Faudemay, Bull. Soc. chim. France 4, 1149 (1937).
- [16] A. J. Clark & K. Bloch, J. biol. Chemistry 234, 2578 (1959).
- [17] E. Kodicek & H. Levinson, Nature 188, 1023 (1960).
- [18] J. F. Eastham & R. Teranishi, Org. Synth. Coll. Vol. 4, 192 (1963).
- [19] G. Stork, P. A. Grieco & M. Gregson, Tetrahedron Letters 1969, 1393.
- [20] W. Nagata, T. Wakabayashi, M. Narisada, Y. Hayase & S. Kamata, J. Amer. chem. Soc. 93, 5740 (1971).
- [21] R. H. Cornforth & G. Popjak, Methods in Enzymology 15, 382 (1969).
- [22] N. Neuner-Jehle, F. Etzweiler & G. Zarske, Chromatographia 6, 211 (1973).
- [23] K. Grob, Helv. 48, 1362 (1965); 51, 718 (1968).
- [24] H. Frohofer, Z. analyt. Chem. 253, 97 (1971).
- [25] Handbook of Chemistry and Physics, 53rd Edition, The Chemical Rubber Co., 1972.

ABKUERZUNGSVERZEICHNIS

Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
ATP	Adenosintriphsphat
p-BrPBr	p-Bromphenacylbromid
¹³ C-NMR.	¹³ C-Kernresonanz-Spektrum
m-Cl-PBS	m-Chlorperbenzoesäure
DC.	analytische Dünnschichtchromatographie
präp. DC.	präparative Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DMAP	N, N-Dimethylaminopyridin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DBU	1, 8-Diazabicyclo[5. 4. 0] undec-7-en
Eu(fod) ₃	Europium-tris-(1, 1, 1, 2, 2, 3, 3-heptafluor-7-7-dimethyl-4, 6-octadionat)
GC.	Gas-Chromatogramm
GC. /MS.	Gas-Chromatograph gekoppelt mit Massenspektrometer
HMPT	Hexamethyl-phosphorsäure-triamid
¹ H-NMR.	Protonen-Kernresonanz-Spektrum
HV.	Hochvakuum (in der Regel 0, 01 Torr)
IR.	Infrarot-Spektrum
LIS	Lanthanide-induced- shift
LMPD	Lithiomethyl-phosphonsäure-dimethylester
Lsm.	Lösungsmittel
MS.	Massen-Spektrum
NBS	N-Bromsuccinimid
POPOP	1, 4-Bis-(4-methyl-5-phenyl-oxazol-2-yl)-benzol
PPO	2, 5-Diphenyl-oxazol
PPS	Polyphosphorsäure
P. sre	Pikrinsäure
Py	Pyridin

RT.	Raumtemperatur
RV.	Rotationsverdampfer
Smp.	Schmelzpunkt
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
p-TsOH	p-Toluolsulfonsäure
UV.	Ultraviolett-Spektrum

Ich danke Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn und seinen Mitarbeitern für die Aufnahme von NMR. -Spektren, Herrn Prof. Dr. M. Hesse und seinen Mitarbeitern für die Aufnahme von MS. -Spektren, dem Mikrolabor unter der Leitung von Herrn H. Frohofer für Isotopenbestimmungen, die Aufnahme von IR. -Spektren und die Ausführung von Analysen.

Herrn Dr. W. -D. Woggon danke ich für die Einführung in das Arbeitsgebiet und viele anregende Diskussionen sowie Herrn A. Guggisberg für seine wertvollen Ideen.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und der Prof. Dr. Hans E. Schmid-Stiftung danke ich für die finanzielle Unterstützung.

LEBENS LAUF

Am 9. Januar 1947 wurde ich, Suzanne Antoinette Hauffe, Bürgerin von Illnau (Kt. Zürich), in Zürich geboren. Nach Absolvierung von 6 Jahren Primar- und 3 Jahren Sekundarschule daselbst, besuchte ich 4 Jahre das Unterseminar der Töchterschule der Stadt Zürich, wo ich im Frühjahr 1967 mit dem Abgangszeugnis abschloss. Anschliessend besuchte ich das Kantonale Oberseminar in Zürich, welches ich im Frühjahr 1968 mit dem Fähigkeitszeugnis für Primarlehrer verliess.

Im Sommersemester 1968 immatrikulierte ich mich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich mit Hauptfach Chemie. Im Juni 1975 erlangte ich das Diplom als Naturwissenschaftler mit Hauptfach Organische Chemie. Danach arbeitete ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Schmid † an der vorliegenden Dissertation, die ich im August 1979 abschloss.

Während meiner Studienzeit besuchte ich Vorlesungen, Uebungen und Praktika bei Frau Prof. V. Meyer und den Herren Dozenten und Lehrbeauftragten K. Bernauer, H. J. Brandenberger, R. Buchecker, A. S. Dreiding, C. H. Eugster, H. Fischer, H. -J. Hediger, H. Heimgartner, W. Heinzelmann, M. Hesse, W. Kündig, H. Labhart †, W. Ludwig, H. R. Oswald, W. von Philipsborn, H. Schmid †, H. Streuli, M. Viscontini, B. L. van der Waerden, G. Wagnière, H. Wanner, H. Werner, W. -D. Woggon, J. Zsindely.

